Experimentelle Beiträge zur Kolloidchemie der Zellteilung

Habilitationsschrift
zur Erlangung der venia legendi
an einer hohen
naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät
der Universität Heidelberg

Eingereicht von
Dr. phil. nat. Josef Spek
aus Sächsisch-Regen

DRESDEN und LEIPZIG 1920
Theodor Steinkopff, Verlagsbuchhandlung



Experimentelle Beiträge zur Kolloidchemie der Zellteilung.

In Untersuchungen, welche ich noch vor drei Jahren über den Mechanismus der Zellteilung ausführte[1]), gelangte ich mit großer Bestimmtheit zu dem Endresultat, daß sich O. Bütschli's Hypothese, nach der Oberflächenspannungsdifferenzen die Durchschnürung der Zelle hervorrufen, durch eine große Reihe tatsächlicher Beobachtungen überzeugend stützen läßt. Es war somit der letzte Akt des Zellteilungsprozesses, die Durchschnürung des Zelleibes, unserm physikalisch-chemischen Verständnis nähergerückt; außer ihm waren höchstens noch die unmittelbar vorhergehenden Veränderungen der mitotischen Zelle zur Besprechung gelangt, ganz unerörtert blieben jedoch in der zitierten Arbeit die äußeren oder inneren Ursachen, welche die ruhende Zelle veranlassen, Veränderungen durchzumachen, die schließlich zu gesetzmäßigen Oberflächenspannungsdifferenzen am Zelleib und damit zur Zelldurchschnürung führen.

Ein genaueres Studium gewisser Wirkungen von Salzen, Säuren, Basen und Nichtelektrolyten auf den Zustand von lebenden wie toten Kolloiden wies mir dann später den Weg, auf dem auch diese letztgenannte Frage einer experimentellen Analyse unterzogen werden konnte, und ich legte schon in meiner Arbeit über den Mechanismus der Gastrulaeinstülpung[2]) im vorigen Jahre in aller Kürze meine zunächst rein hypothetischen Vorstellungen über diese Frage auseinander (loc. cit. **2**, 316—320 [1918]). Da sie nun auch zur Arbeitshypothese, zum Arbeitsprogramm für die vorliegenden Untersuchungen wurden,

---

[1]) J. Spek, Arch. f. Entwicklungsmech. **44**, 5—113 (1918).

[2]) J. Spek, Kolloidchem. Beih. [9] **10—12**, 259—400 (1918). — Diese beiden Arbeiten sollen später kurz mit 1. und 2. bezeichnet werden.

muß ich sie hier etwas genauer wiederholen. Ich wende mich somit zur Präzisierung der Fragestellung für die folgenden Erörterungen.

Die Hauptfrage, die wir uns stellen werden, wird die sein, ob nicht ein bestimmter Wassergehalt der Zelle eine Hauptbedingung zum Beginn von Zellteilungen ist, ob, genauer gesagt, eine Erleichterung bzw. eine Erhöhung der Wasserzufuhr in die Zelle diese nicht zu Teilungen anregt.

Der Gedanke, daß eine gesteigerte Wasserzufuhr Zellteilungen einleiten kann, ist — meistens allerdings nicht in sehr präziser Form — in der Literatur gelegentlich schon geäußert worden. Wie sehr es aber bei allen diesen Erörterungen der Frage stets an einer überzeugenden Beweisführung gemangelt hat, geht schon daraus hervor, daß von Zeit zu Zeit auch die gerade gegenteilige Ansicht, daß überall eine Wasserentziehung lebhafte Zellteilungsprozesse einleitet, in der biologischen Literatur auftaucht, um freilich gerade so wenig wie die anderc konsequent auf möglichst viele Einzelfälle angewendet und genauer bewiesen zu werden. Für die Wasserentziehungstheorie traten in letzterer Zeit besonders J. Dewitz[1]) und E. Bataillon[2]) ein. Mit ihren Ansichten werden wie uns zum Teil an späterer Stelle noch genauer befassen, ebenso wie wir auch die Ansicht Y. Delage's[3]), daß sich vor der Zellteilung im Zelleib neben lokalisierten Koagulationen auch bestimmte Verflüssigungen der Zellkolloide abspielen, im zweiten Abschnitt der Arbeit, der über die künstliche Parthenogenese handeln wird, noch besprechen werden.

Von großer Bedeutung für unsere Frage sind meiner Ansicht nach Untersuchungen, die sich an eine Entdeckung von Mc Clendon[4]) knüpften. Mc Clendon fand nämlich 1910, daß mit Beginn der Entwickelung der Seeigeleier nach normaler oder künstlicher Befruchtung eine Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit derselben stattfindet. Sie beruht aller Wahrscheinlichkeit nach nicht auf einer Erhöhung der inneren Leitfähigkeit der Eier durch Vermehrung ihres Gehaltes an Elektrolyten, sondern auf einer Verminderung des Widerstandes, den die Zellmembranen dem Durchtritt der Ionen darbieten, mit anderen Worten auf einer Erhöhung der Permeabilität der Zellen.

---

[1]) J. Dewitz, Biol. Centralbl. **37**, 498—503 (1917).

[2]) E. Bataillon, Annal. d. scienc. natur (Zoologie) **16**, IX. Ser. (1912).

[3]) Y. Delage, Archives de Zoolog. expér. générale [4. Ser.] **7**, 487 (1907/08).

[4]) Mc Clendon, Amer. Journ. Physiol. **27**, 240—275 (1910); siehe auch Biolog. Bulletin **22**, 154—162 (1912).

Daß bei den Furchungsteilungen, wie bei jeder anderen Zellteilung eine solche Erhöhung der Durchlässigkeit der Zellmembranen stattfindet, wird noch durch eine große Anzahl anderer experimenteller Beobachtungstatsachen sehr wahrscheinlich gemacht. Von diesen will ich die wichtigsten auch hier vorbringen. Mc Clendon selbst stellte noch fest, daß die sich furchenden Eier bei plasmolytischen Versuchen viel empfindlicher sind als die unbefruchteten. Sie schrumpfen z. B. in einer isotonischen reinen Zuckerlösung viel leichter als die unbefruchteten, was bei Berücksichtigung anderer Versuchsresultate von Mc Clendon (loc. cit. 263 [1910]) am wahrscheinlichsten so zu deuten ist, daß die befruchteten Eier die Stoffe, die den osmotischen Druck im Innern der Zellen bewirken, also vor allem die Salze, leichter ausdiffundieren lassen (Mc Clendon).

Eine in gesetzmäßigem Rhythmus bei jeder Teilung des sich furchenden Keimes sich immer wieder in deutlicher Weise bemerkbar machende gesteigerte Empfindlichkeit desselben gegen hypertonische Lösungen konnte auch A. R. Moore[1]) konstatieren. In seiner Arbeit finden sich auch noch eine Reihe anderer Literaturangaben über eine rhythmische Steigerung der Empfindlichkeit der Furchungszellen gegen chemische Einflüsse. In allen den einzelnen Fällen ist immer wieder jeder neue Teilungsschritt von einem plötzlichen Steigen der Empfindlichkeit begleitet, und dies würde sich in allen Fällen durch eine gesteigerte Durchlässigkeit der sich teilenden Zellen für die verschiedenen Stoffe am einfachsten erklären lassen.

Lyon und Shackell[2]) und E. N. Harvey[3]) wiesen eine Steigerung der Durchlässigkeit der Furchungsblastomeren (gegenüber dem unbefruchteten Ei) für Farbstoffe, E. N. Harvey[4]) außerdem auch für Alkalien auch auf direktem Wege nach.

Die von O. Warburg[5]) für jeden neuen Teilungsschritt bei der Furchung nachgewiesene Steigerung der Sauerstoffabsorption könnte zum Teil wenigstens auch durch eine rhythmische Steigerung der Durchlässigkeit der Zellen für Gase bedingt sein. Nach Lyon[6]) sollen die Furchungszellen während der Zellteilung auch für Kohlensäure durchlässiger sein.

---

[1]) A. R. Moore, Biol. Bull. **28**, 253—260 (1915).

[2]) Lyon und Shackell, Science **32**, 250 (1910).

[3]) E. N. Harvey, Science **32**, 565 (1910).

[4]) E. N. Harvey, Journ. exp. Zoology **10**, 508—556 (1911).

[5]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 1—16 (1908) und **60**, 443—453 (1909).

[6]) E. Lyon, Biol. Bull. **6**, 323 (1904).

Neue Untersuchungen über solche gesetzmäßige Aenderungen der Durchlässigkeit der sich teilenden Zellen hat R. S. Lillie[1]) veröffentlicht. Bei den jetzigen Kriegszeiten konnte ich mir die betreffenden Zeitschriften leider nicht verschaffen. — Eine gesteigerte Permeabilität scheint überhaupt allen sich teilenden Zellen eigen zu sein. (Mc Clendon, loc. cit.) —

Die neueren experimentellen Untersuchungen über Permeabilitätsänderungen der Zellen[2]) haben nun mit ziemlicher Eindeutigkeit zu dem Resultat geführt, daß eine Steigerung der Permeabilität vor allem verursacht werden kann 1. durch eine stärkere Aufquellung der Membran- und Plasmakolloide, 2. durch eine Verminderung der Fällungswirkung des Außenmediums, also vor allem auch der darin gelösten Salze. Ein Stoff, der die Membrankolloide aufquellen läßt, muß die Durchlässigkeit derselben erhöhen, denn gelöste Stoffe diffundieren um so leichter durch ein Kolloid, je wasserhaltiger es ist, je weiter die Partikelchen des Kolloides durch die Wassermoleküle auseinandergedrängt werden, und je stärker die innere Reibung, die dem Eindringen des betreffenden Stoffes den größten Widerstand bietet, hierdurch vermindert wird. In gleichem Sinne wie eine solche Steigerung des Wassergehaltes wirkt auch eine Zustandsänderung des Kolloides im Sinne einer Verschiebung vom Gel- zum Solzustand. Auch eine solche „Verflüssigung oder Verquellung" führt zu einer Erleichterung der Diffusion gelöster Stoffe durch das Kolloïd. Das ist auch insoweit für unsere späteren Betrachtungen von Bedeutung, als beide Prozesse (sowohl die Wasseraufnahme durch Quellung, als auch eine Veränderung des Kolloides im Sinne Gel ⟶ Sol) durch die Anwesenheit gelöster Stoffe im gleichen Sinne beeinflußt werden. — Feinste Niederschlagsbildungen an der Oberfläche der Zellen, hervorgerufen durch die Einwirkung der Elektrolyte des Außenmediums auf die Zellkolloide, erschweren das Eindiffundieren gelöster Stoffe in die Zellen, rufen also eine Permeabilitätsverminderung hervor.

Da nun eine Aenderung des Außenmediums z. B. während der Teilungen des sich furchenden Keimes natürlich nicht stattfindet, bleibt für diesen und für ähnliche Fälle als wahrscheinlichste Erklärung für die nachgewiesene Permeabilitätssteigerung eine Verquellung der Plasmakolloide, sei es nun als vorübergehend gesteigerte Wasserabsorption

---

[1]) R. S. Lillie,

[2]) Ich verweise auf die zusammenfassenden Darstellungen in R. Höber Physik. Chemie der Zelle und der Gewebe (1914) und meine Ausführungen in der zitierten Arbeit in Kolloidchem. Beih. [9] **10—12**, 259—400 (1918).

durch Quellung oder eine Zustandsänderung der Zellkolloide im Sinne Gel → Sol, die keine absolute Zunahme des Wassergehaltes und des Volums zur Voraussetzung hat, in Betracht. (Unter „Verflüssigung oder Verquellung der Plasmakolloide" will ich in Zukunft immer beide Möglichkeiten verstehen.)

Eine Durchlässigkeitssteigerung der Zellen kann aber eine gesteigerte Wasserabsorption nicht nur zur Ursache, sondern auch eo ipso zur Folge haben. Wenn einmal auf irgend eine Weise eine Durchlässigkeitssteigerung zustande gekommen ist, so ist damit auch den Wassermolekülen, und ihnen vielleicht noch mehr als den im Wasser gelösten Stoffen, der Eintritt in die Zellen erleichtert, und wenn die Zellkolloide von Wasser noch nicht gesättigt sind, wird bis zu ihrer Sättigung von den Zellen immer weiter Wasser aufgenommen werden.

Zusammenfassend können wir somit sagen, daß die für den Eintritt von Zellteilungen nachgewiesene Durchlässigkeitssteigerung der Zellen mit nicht geringer Wahrscheinlichkeit auf eine Verflüssigung der Zellkolloide zu Beginn der Teilung hinweist. Ich will nun auch noch weitere Tatsachen anführen, die mir, noch bevor ich eigene Erfahrungen über den Gegenstand gesammelt hatte, eine solche Verquellung der Plasmakolloide wahrscheinlich machten.

Es stehen uns auch Mittel zur Verfügung, eine Verflüssigung von Kolloiden künstlich herbeizuführen. Zusätze zum Wasser beeinflussen die Quellung in hohem Grade. Im einzelnen kann ich auf meine Zusammenfassung der neueren Ergebnisse der Kolloidchemie der Quellung in den Kolloidchem. Beih. [9] **10—12** verweisen. Hier genügt es uns zu wissen, daß die Wirkung der Elektrolyte auf die Quellung sich aus den Einzelwirkungen ihrer Ionen addiert, daß die für die Anionen festgestellte Reihe („Quellungsreihe"), in der sie die Quellung beeinflussen: $SCN > J > Br > NO_3 > ClO_3 > Cl >$ Azetat $> SO_4$ und die Kationenreihe: $Li > K > Na >$ Erdalkalien lautet. Reine Säure- und Alkalilösungen sind durchweg starke Quellungsmittel. Unter den organischen Verbindungen sind noch (außer den Fettsäuren) die guten Narkotika wie Aether, Chloroform, Chloralhydrat u. a. auch als gute Quellungsförderer festgestellt.

Steht nun eine solche Verflüssigung der Zellkolloide, wie wir sie für den Beginn der Zellteilung vermuten, auch in ursächlichem Zusammenhang mit dem Teilungsprozeß, ist also nicht nur Begleiterscheinung, so müssen wir auch erwarten, daß eine geeignete Behandlung der Zellen mit quellungfördernden Substanzen die Zellen

zur Teilung anregt. Diese Ueberlegung soll der Grundstein unseres ganzen Arbeitsprogrammes werden.

Versuche nach dieser Richtung liegen schon vor, sie sind nur von ganz andern Gesichtspunkten ausgeführt worden. Ich meine vor allem eine Reihe von Methoden der künstlichen Parthenogenese. - Im zweiten Teil der vorliegenden Veröffentlichung will ich das Problem der künstlichen Parthenogenese ausführlich erörtern. Ich möchte aber doch auch hier schon diejenigen Versuche anderer Autoren erwähnen, die mich stets in meiner Ansicht bestärkten, daß eine Verflüssigung der Zellkolloide die Zellteilungen einleiten kann. Vor allem sind es die sog. zytolytischen Methoden [nach J. Loeb's Bezeichnung[1])], die her gehören. Die Erscheinung der Zytolyse können wir heute definieren als eine stärkere Durchlässigkeitssteigerung der Zellen mit einer gesteigerten Wasseraufnahme und Verquellung der Kolloide. Da sie bei längerer Dauer außerdem auch zu einer Alteration der normalen Zusammensetzung des Salzgehaltes der Zellen führen kann, indem gewisse Salze, wie übrigens auch andere im Plasma gelöste Stoffe (Farbstoffe usw.) aus den Zellen ausdiffundieren und andere Stoffe der Umgebung (etwa auch die zugesetzten zellfremden) anormalerweise in die Zellen hineingelangen können, kommt es schließlich zu groben Phasentrennungen des Plasmas in dünnflüssige bisweilen Vakuolen bildende und in dichtere, sich zu einem Netzwerk zusammenschließende Kolloide, so daß dann meist das Bild einer Koagulation des Plasmas und je nach der Art der Verteilung der beiden Phasen und nach ihren optischen Eigenschaften eine Trübung oder ein wasserhelles, glasiges Aussehen hervorgerufen wird, Erscheinungen, die dann zum Zelltod führen. — Eine kurze und eventuell auch sonst noch geregelte Behandlung der unbefruchteten Eier mit den zytolytisch oder sagen wir im Sinne unserer Ansicht gleich verquellend wirkenden Substanzen wie Fettsäuren, Alkaloiden (Saponin u. a.), destilliertem Wasser[2]) und anderen Mitteln führt zum Beginn der Furchung. Daß auch Stoffe wie Chloroform, Aether und Kohlenwasserstoffe quellungsfördernd wirken können, soll nochmals hervorgehoben werden. Im übrigen kommt dann für sie auch noch in Betracht, daß sie die lipoiden Stoffe der Zellmembranen auflösen und auch damit die Durchlässigkeit derselben erhöhen können. Eine solche Durchlässigkeitserhöhung unter dem Einfluß von Chloroform und Aether ist für Seeigeleier von E. N. Harvey[3])

---

[1]) J. Loeb, Die chem. Entwicklungserregung des tierischen Eies (Berlin 1909).
[2]) Schücking, Arch. ges. Physiol. **97** (1903).
[3]) E. N. Harvey, Journ. exp. Zoology **10**, 550 (1911).

direkt nachgewiesen worden (S. 550). An dieser Stelle wären auch noch eine Reihe von Versuchen mit Gewebswucherungen erzeugenden Stoffen anzuschließen, für die es Schmincke u. Wacker[1]) in einer zusammenfassenden Darstellung wahrscheinlich machen konnten, daß wieder ein beträchtliches Lipoidlösungsvermögen jene Stoffe zu ihrer teilungsfördernden Wirkung befähigt. Die erste Anregung zu diesen Versuchen gab B. Fischer[2]), dem es gelang, durch Einspritzung von in Oel gelösten Farbstoffen (Scharlach-R, Sudan III) im Kaninchenohr Wucherungen zu erzielen. Die Erzeugung von Gewebswucherungen durch injiziertes Scharlachöl wurde dann später wiederholt auch von anderen Autoren mit Erfolg versucht. Erwähnt seien z. B. die Untersuchungen von H. Stoeber[3]), L. Waelsch[4]) und L. Schreiber und F. Wengler[5]). Auch den Komponenten der genannten Azofarbstoffe kommt eine teilungsfördernde Wirkung zu [Stoeber[6]]. Ich erwähne schließlich auch noch positive Versuche F. Reinke's mit Aetherwasser[7]).

Selbst für die künstliche Parthenogenese mit Hilfe von Salzlösungen, die noch am ehesten zum Beweise anderer Entwickelungstheorien (auch der Wasserentziehungstheorie!) herangezogen worden sind, haben Untersuchungen von R. S. Lillie[8]) zu Resultaten geführt, die sehr geeignet sind, die hier vertretene Theorie zu stützen. R. S. Lillie fand nämlich, daß reine Lösungen von Natrium- und Kaliumsalzen um so besser geeignet sind, die Entwickelung anzuregen, je stärker sie die Permeabilität der Arbaziaeier erhöhen. Die Permeabilitätssteigerung wurde an dem Austreten des roten Pigmentes der Eier in stärkeren Salzlösungen erkannt. Die Reihe, in der die Anionen die Permeabilität steigern und die Entwickelungserregung begünstigen, lautet: $J > SCN > NO_3 > ClO_3 > Br > Cl$. Sie stimmt recht gut auch mit der Quellungsreihe der Anionen überein, was uns ohne weiteres als erklärlich erscheint, da wir ja Quellungsförderung und Permeabilitätssteigerung nach dem obigen in kausalen Zusammenhang bringen. Mit gleichstarken (mit Meerwasser isotonischen) Lösungen von Erdalkalisalzen konnte Lillie überhaupt keine Parthenogenese

---

[1]) Schmincke u. Wacker, Münchn. med. Wochenschr. **30** u. **31** (1911).

[2]) B. Fischer, Verh. deutsch. pathol. Ges. **10** (1906) und Münchn. med. Wochenschr. **42** (1906).

[3]) H. Stoeber, Münchn. med. Wochenschr. **56** (1909) und **57** (1910).

[4]) L. Waelsch, Arch. f. Entwicklungsmech. **38**, 509—539 (1914).

[5]) L. Schreiber u. F. Wengler, Arch. f. Ophthalmologie **74**, 1 (1910).

[6]) H. Stoeber, siehe [3]) 1909.

[7]) F. Reinke, Arch. f. Entwicklungsmech. **24** (1907) und **26** (1908).

[8]) R. S. Lillie, Amer. Journ. Physiol. **26**, 106 (1910) und **27**, 289 (1910-11).

erzielen. Ja, es genügt sogar ein geringer Zusatz von Erdalkalisalzen zu isotonischen Natriumsalzlösungen, um deren parthenogenetische Wirkung aufzuheben. Es wird eben ganz im Sinne unserer theoretischen Vorstellungen die permeabilitätssteigernde zytolytische Wirkung der reinen Natriumsalzlösung durch das entquellend wirkende $CaCl_2$ aufgehoben oder doch eingeschränkt. Mögen die Salzlösungen unter bestimmten Umständen auch durch Einwirkung auf andere Faktoren (nicht nur den Quellungszustand) befähigt sein, die Entwickelung in Gang zu bringen, so lehren die vergleichenden Versuche Lillie's doch, daß sie hierzu um so besser befähigt sind, wenn sie auch ein entsprechendes Quellungsförderungsvermögen besitzen. Jene anderen entwickelungserregenden Eigenschaften der Salze sollen im zweiten Teil besprochen werden.

Nicht unerwähnt darf schließlich auch noch eine Arbeit von A. Breckner[1]) bleiben, aus der wir erfahren, daß es gelingt, Eier von der in Salztümpeln lebenden Artemia salina zum Ausschlüpfen zu bringen, wenn man sie in verdünntere (hypotonische) Salzlösungen bringt. Die Zusammensetzung der Salzlösungen ist für den Versuch vollkommen belanglos. Er gelingt mit reinen Lösungen von Na-, K-, Mg- oder Ca-Salzen gerade so gut wie mit zusammengesetzten. Die Ursache der Entwickelungserregung ist also in diesem Fall sicherlich nichts anderes als eine stark gesteigerte Wasserzufuhr.

Handelt es sich bei der für den Beginn der Mitose angenommenen Verflüssigung der Zellkolloide um eine wirkliche Quellung unter Wasseraufnahme und nicht nur eine Veränderung in der Richtung Gel $\rightarrow$ Sol, so muß die Zelle eine Volumzunahme erleiden. In bestimmten Fällen läßt sich nun auch vor der Teilung eine sogar sehr beträchtliche Volumzunahme leicht konstatieren. So z. B. quillt (ähnlich wie bei dem plötzlichen Plasmawachstum bei der Kammerneubildung der schalenbildenden marinen Rhizopoden) auch bei der Teilung der Süßwasser-Testazeen[2]) der ursprünglich allein in der Mutterschale geborgene Weichkörper in ganz kurzer Zeit auf etwa das Doppelte seines Volums auf, indem er das für die Tochterzelle bestimmte Plasmaquantum aus der Schalenmündung vorschiebt. Da nicht daran zu denken ist, daß das Plasmaquantum sich in so kurzer Zeit durch Vermehrung der

---

[1]) A. Breckner, Verhandl. siebenbürg. Ver. f. Naturwiss., Hermannstadt, 58, 100—152 (1908).

[2]) Zitiert nach W. Biedermann, Wintersteins's Handb. d. Physiol. [3] 1, 487. Siehe aber auch besonders W. Schewiakoff, Morphol. Jahrbuch 13, 193 (1887.)

organischen Substanz so vergrößert, dürfte es sich hierbei um einen reinen Quellungsvorgang handeln. Eine nicht unbeträchtliche Volumvergrößerung läßt sich ohne weiteres z. B. auch an den sich teilenden Endothelzellen der Blutkapillaren aus dem Bauchfell der Salamanderlarven erkennen. F. Reinke[1]) führte an diesen Zellen Größenbestimmungen aus. Auch bei dieser in zirka einer Stunde ihr Maximum erreichenden Volumzunahme der Zellen des Kapillar-Endothels dürfte es sich um eine bloße Wasserabsorption handeln.

Bei Furchungszellen findet bei der Teilung eine so auffällige Volumvergrößerung jedenfalls nicht statt. Ob nicht eventuell eine vorübergehende kleine Wasseraufnahme erfolgt, läßt sich bei der eintretenden Gestaltveränderung direkt schwer feststellen. Indirekt spricht aber folgende Erscheinung dafür, die ich an Furchungsblastomeren kleiner Nematoden und denen von Nephelis oft gesehen und schon früher (loc. cit. 2, 318 [1918]) beschrieben habe. Es springen nämlich stets die sich teilenden Blastomeren mit konvexen Konturen gegen die ruhenden Nachbarzellen vor, d. h. sie buchten die letzteren, wo sie ihnen anliegen, ein. Ist die Teilung vorüber, so flachen sich die Berührungsflächen beider Zellen gleichmäßig gegeneinander ab. Beginnt dann die Nachbarzelle mit der Teilung, so buchtet nun sie die erste Zelle ein. Am einfachsten scheint mir die Erscheinung so zu erklären zu sein, daß sich die mitotische Zelle infolge eines höheren Innendruckes — sei das nun ein erhöhter osmotischer Druck oder ein erhöhter Quellungsdruck, der sich gerade so äußern müßte, wenn ein zäheres Ektoplasma einigen Widerhalt bietet[2]) — kugelig aufblähen muß und schwerer eingebuchtet werden kann. Eine allgemeine Erhöhung der Oberflächenspannung am ganzen Zelleib und die dadurch gegebene allgemeine Zunahme des nach innen gerichteten Krümmungsdruckes müßte ebenso wirken; es müßte sich aber auch wirklich um eine allgemeine gleichmäßige Erhöhung der Oberflächenspannung handeln. Eine solche findet aber in diesem Stadium an der Zelle nach meinen Erfahrungen nicht statt (loc. cit. 1918, 1), sondern es kommt gerade zur Ausbildung von Bezirken verschiedener Oberflächenspannung, die eine Erklärung der beschriebenen

---

[1]) F. Reinke, Arch. f. Entwicklungsmech. 9, 321—330 (1900).

[2]) Dabei brauchte es sich nicht um eine allgemeine Aufquellung des ganzen Zelleibes handeln; eine lokale Aufquellung bestimmter Zellpartien, wie ich sie in der Tat annehme (siehe später), würde, da sich der Druck in der flüssigen Plasmamasse gleichmäßig verteilt, ebenso wirken müssen.

Erscheinung durch die Wirkung der Oberflächenspannung unmöglich macht.

Ich habe nun die Beobachtungstatsachen mitgeteilt, die mir für die Ansicht sprachen, daß eine gewisse Aufquellung bzw. Verflüssigung der Plasmakolloide vor der Teilung der Zellen stattfindet und mit dem Teilungsprozesse selbst in kausalem Zusammenhang steht. Unsere Aufgabe soll es nun in dieser Arbeit sein, zu untersuchen, ob durch eine künstlich herbeigeführte Erhöhung oder Verminderung der Wasserzufuhr in die Zelle eine Beeinflussung der Zellteilungsgeschwindigkeit möglich ist. Von der schon vielfach gewonnenen Erfahrung ausgehend, daß der Wassergehalt der tierischen Zellen nicht allein durch osmotische Faktoren, sondern unter Umständen in weitem Maße auch durch den Quellungszustand der Plasmakolloide bestimmt wird, erschien es nur notwendig, quellungsfördernde oder quellungshemmende Substanzen auf die Zellen einwirken zu lassen, um die gewünschte Beeinflussung ihres Wassergehaltes zu erreichen. War die Arbeitshypothese richtig, so mußte eine Behandlung der Zellen mit quellungsfördernden Stoffen einer Begünstigung, die Behandlung mit quellungshemmenden Stoffen einer Verminderung der Teilungen entsprechen.

Die Versuche wurden in erster Linie mit verschiedenen Salzlösungen ausgeführt. Als Untersuchungsmaterial dienten einzellige Lebewesen, und zwar hauptsächlich Paramaecium caudatum.

Da der Einfluß verschiedener Salzlösungen auf die Infusorienzelle und zum Teil auch schon der Einfluß derselben auf die Teilungsgeschwindigkeit der Infusorien auch von anderen Autoren studiert worden ist, will ich zunächst auch einen kritischen Bericht über ihre Veröffentlichungen geben.

Literaturbericht.

Die erste größere vergleichende Untersuchung über das Verhalten von Infusorien in gleichstarken Lösungen verschiedener Salze hat E. G. Balbiani[1]) geliefert. Er konstatierte, daß Salzlösungen in höheren Konzentrationen eine Schrumpfung („Plasmorrhyse“), d. h. Faltung und Abflachung des Körpers der Paramäzien hervorrufen.

[1]) E. G. Balbiani, Arch. d'anatom. microsc. 2, 518—596 (1898).

Natriumsalze tun dies in einer Konzentration über 0,30 Proz. Eine 0,30 prozentige Lösung derselben ruft keine Plasmorrhyse mehr hervor. Die Tiere können in ihr tagelang leben. Dieser Befund berechtigt noch nicht zu der Annahme, die Balbiani macht, daß der Plasmainhalt der Paramäzien mit dieser Konzentration isotonisch sein dürfte (die Konzentration der Plasmasalze ist sicherlich wesentlich geringer), er besagt nur, daß unter den von Balbiani benützten Versuchsbedingungen (Salzlösungen zu gleichem Volum normaler Kulturflüssigkeit zugesetzt, also Gegenwart anderer Salze!) die Plasmamembranen eine solche Beschaffenheit haben, daß sie von einer 0,30 prozentigen Natriumsalzlösung nicht in Falten gelegt werden können, daß sie einen Grad von Undurchlässigkeit besitzen, der eine Wasserentziehung aus den Zellen nicht gestattet. Balbiani selbst konstatierte, daß diese Verhältnisse sich absolut ändern, wenn man an Stelle der Na-Salze gleich starke Lösungen von Kalisalzen anwendet. Diese rufen in wenigen Minuten Plasmorrhyse hervor. Balbiani sucht dies durch besondere chemische Wirkungen der Kalisalze zu erklären. Zu diesem Ausweg sind wir aber nicht gezwungen, die Erklärung ergibt sich uns ohne weiteres auf andere Weise aus Balbiani's weiteren Beobachtungen. Balbiani fand, daß die Plasmorrhyse bald wieder zurückging, um einer starken Wasserabsorption und schließlichen Desorganisation des Plasmas Platz zu machen, die in kurzer Zeit zum Tode der Tiere führte. Die Verhältnisse liegen meiner Ansicht nach so: die angewandten Salzlösungen sind hypertonisch. Da die Kalisalze besser als Na-Salze auf die Zellmembranen quellend wirken (also nach den obigen die Permeabilität stärker erhöhen) ermöglichen sie zunächst den Austritt von Wasser in das konzentriertere Außenmedium. Sehr bald dringen sie nun aber auch selbst ein, die Plasmorrhyse hört auf, und es beginnt auch eine Aufquellung des Plasmas selbst, es beginnen kurz gesagt solche Veränderungen, wie wir sie oben für die „Zytolyse" für charakteristisch bezeichnet haben. Mischt man die als isotonisch berechnete Kalisalzlösung mit der gleich starken NaCl-Lösung (Balbiani, loc. cit. 566), so treten die beschriebenen Erscheinungen viel langsamer ein als in reiner Kalisalzlösung, ein Befund, der durch osmotische Verhältnisse unerklärbar ist, dagegen als selbstverständlich erscheint, wenn man sich erinnert, daß beim NaCl-Zusatz: 1. durch das Hinzukommen von weniger quellend wirkenden Ionen, 2. durch eine Steigerung der fällenden Wirkung des Außenmediums (ich verweise z. B. auf Spek, loc. cit. 2, 358 [1918]) die Permeabilität herabgesetzt wird. — Lithiumsalzlösungen (LiCl, LiBr und LiJ) in „isotonisch

berechneter Lösung weisen eine Stunde lang keine Wirkung auf (wie Na-Salze), dann aber tritt Vakuolisation, starke Aufquellung und Platzen der Cuticula ein (Balbiani, loc. cit. 563). Ich habe schon im Vorjahre als charakteristisch für die Wirkung von Li-Salzen erklärt: 1. eine anfängliche Permeabilitätsverminderung durch die Fällungswirkung der Li-Ionen, dann aber schließlich starke Quellungsförderung (siehe Spek, loc. cit. 2, 347 ff.). Ich habe dem hier nichts hinzuzufügen. — Zusammenfassend läßt sich also über Balbiani's Befunde berichten, daß er beim Vergleich der Wirkung isomolekularer Salzlösungen, immer wieder spezifische Eigenschaften der Ionen fand, die sich allein aus der osmotischen Theorie nicht erklären lassen. Balbiani konstatierte auch schon eine große individuelle Verschiedenheit im chemischen Verhalten der Paramäzien einer Kultur.

Spezifische Eigenschaften einzelner Salze fand auch A. Yasuda[1]), der die Anpassungsfähigkeit einiger Infusorien an verschiedene gelöste Substanzen studierte, vor. Die meisten Infusorien (auch Paramäzium) vertragen das nach unserer Ansicht am raschesten eindringende Chlorammonium am schlechtesten, das am schwersten eindringende Magnesiumsulfat auch in höheren Konzentrationen am besten. Chloride und Nitrate von Kalium und Natrium stehen in der Mitte. Im allgemeinen wirken Kalisalze schon in niedrigerer Konzentration schädigend als Natriumsalze und hemmen die Vermehrung.

Osmotische Versuche, die wichtige Schlußfolgerungen gestatten, führte P. Enriques[2]) aus. Durch ganz allmähliches Uebertragen von Infusorien in immer höhere Konzentrationen gewöhnte er diese an starke Salzlösungen, in denen die Tiere sofortige Faltenbildung und Schrumpfung aufweisen, wenn sie direkt aus dem normalen Kulturmedium in dieselben überführt werden. Haben sich die Tiere an stärkere Konzentrationen gewöhnt, und man bringt sie in schwache zurück, so quellen sie in diesen auf und können unter vollständiger Auflösung eingehen. War der Konzentrationsunterschied zwischen der stärkeren und der schwächeren Lösung nicht zu groß, so können die Infusorien nach anfänglicher Aufquellung allmählich wieder ihr normales Aussehen erlangen. Diese und ähnliche Beobachtungen, die an verschiedenen Infusorien (auch den mundlosen Opalinen) in übereinstimmender Weise erhalten wurden, zwingen zu der Schlußfolgerung,

---

[1]) A. Yasuda, Journ. of the College of Science Imper. Univ. Tokyo **13**, [illegible]1—140 (1900).

[2]) P. Enriques, Atti Acad. dei Lincei, Ser. V, **11**, 340—347 u. 392—397 [illegible]2).

daß bei längerem Aufenthalt der Tiere in hypertonischen Lösungen die Salze allmählich in die Zellen eindringen und schließlich in größeren Mengen im Plasma enthalten sind als anfangs. Beim Rückführen in schwächere Lösungen (die aber stärker sind als die Ausgangskultur), besteht dann eine solche osmotische Druckdifferenz zwischen außen und innen, daß eine Aufnahme von Wasser in die Zelle eintreten muß. Vorübergehende Volumänderungen der beschriebenen Art zeigen, daß die Membranen für Salze schwerer durchlässig sind als für Wasser.

1904 veröffentlichte A. Greeley[1]) eine Untersuchung, deren Programm manche Verwandtschaft mit unsern Gedankengängen aufweist. Greeley sucht zu zeigen, daß verschiedene Elektrolyte in dem Plasma der Paramäzien strukturelle Veränderungen hervorrufen, die analog sind den in toten Kolloiden verursachten Zustandsänderungen. Die Arbeit verliert dadurch etwas an Bedeutung, daß die beobachteten Veränderungen des Plasmas durchaus nicht mehr physiologisch genannt werden können, sondern allgemeinen Absterbungserscheinungen schon sehr nahe stehen. Bei einer vergleichenden Betrachtung bestimmter Eigenschaften der Elektrolyte (wie ihrer fällenden und ihrer verflüssigenden Wirkung in Greeley's Arbeit) müßte man dann meiner Ansicht nach auch noch besonders einen wichtigen Faktor berücksichtigen, nämlich die Geschwindigkeit mit der sie in die Zellen hineingelangen. Bei den einen ist sie groß, bei den andern sehr klein; und nur einer solchen Verschiedenheit im Durchdringungsvermögen ist es meiner Ansicht z. B. zuzuschreiben, daß Greeley nach einem bestimmten Zeitraum und bei derselben Konzentration für das sonst viel schwächer fällende KCl eine koagulierende Wirkung konstatieren konnte, für NaCl dagegen nicht, daß er mit $MgCl_2$ schon bei einer geringeren Konzentration eine Koagulierung des Plasmas erhielt, mit dem sonst stärker fällenden $MgSO_4$ erst bei der doppelt so hohen. KCl dringt eben leichter ein als NaCl, $MgCl_2$ leichter als $MgSO_4$ und so erreichen diese Salze leichter die zur Fällung erforderliche Konzentration im Plasma. Es geht aber nicht recht an, z. B. KCl kurzer Hand zu den fällenden, NaCl zu den verflüssigenden Substanzen einzuordnen. — Die Hauptresultate Greeley's lassen sich meiner Ansicht nach folgendermaßen deuten: Die Anwendung reiner Lösungen einzelner Salze, Säuren oder Basen, wie wir sie in allen Experimenten Greeley's vorfinden,

[1]) A. Greeley, Biol. Bull. 7, 3—32 (1904).

schafft die beste Voraussetzung zum Eintritt einer Zytolyse durch kräftige Erhöhung der Durchlässigkeit der Zellen. Vermag nun unter diesen Umständen die gelöste Substanz selbst auch in größeren Mengen in die Zellen einzudringen, so kann leicht der Fall eintreten, daß ihre Konzentration in der Zelle nun ausreicht im Plasma eine dichte Fällung zu verursachen, und dies wird um so eher eintreten, wenn die Substanz an sich schon ein starkes Fällungsvermögen besitzt wie $FeCl_3$ oder $AlCl_3$ einerseits und die Mineralsäuren andererseits. Es wird eben in diesen Fällen zu einer Trübung des Protoplasmas kommen, zu einer Koagulation, von der Greeley dann weiter berichtet: .. „within a few hours, the whole cell is reduced to a subspherical mass of densely opaque protoplasm". Kommt es zu keiner Fällung (weil das betreffende Salz usw. keine Fällungskraft besitzt oder die entsprechende Konzentration in der Zelle nicht erreicht), so geht die Zytolyse in der typischen Weise unter starker Schwellung und etwaiger Vakuolisation oder Transparentwerden des Plasmas weiter, so daß schließlich die Tiere platzen können, Vorgänge die natürlich noch beschleunigt werden müssen, wenn die betreffende zytolysierende Substanz noch spezifische quellungsfördernde Eigenschaften besitzt. Was ich hier als Zytolyse klassifiziere, wird von Greeley mit „liquefaction" bezeichnet. — Vorgreifend bemerke ich hier schon, daß unter wirklich physiologischen Verhältnissen die verschiedenen Salze, auch wenn sie sehr ausgesprochene spezifische Wirkungen ausüben, nichts von mikroskopisch wahrnehmbaren Strukturveränderungen und schon gar nicht so grobe, wie Greeley sie beschreibt, erkennen lassen. —

Greeley beobachtete gelegentlich auch eine gesteigerte Vermehrung der Paramäzien in schwächeren Konzentrationen seiner „liquefying substances".

1904 erschien auch eine Arbeit[1]) über die Wirkung von Salzen auf Stentor. Ihr Verfasser ist A. Peters. Im Anschluß an die Versuche Greeley's erwähne ich aus der Peters'schen Arbeit zunächst seine Kulturen von Stentor in reinen Salzlösungen. In den meisten ist die Sterblichkeit der Tiere eine recht große ganz entsprechend unserer Auffassung, daß reine Salzlösungen leicht zur Zytolyse führen können. Auch Peters schreibt auf Grund seiner Versuche die schädliche Wirkung der reinen Salzlösungen Faktoren zu, die eigentlich in allen Punkten mit dem übereinstimmen, was wir Seite 6 als Teilerscheinung der Zytolyse erkannt haben, und ganz

[1]) A. Peters, Proceed. Amer. Acad. **39**, 441—516 (1904).

entsprechend unserer Erwartung, daß das stärker als alle Alkalisalze fällende $CaCl_2$ am wenigsten geeignet ist, eine Permeabilitätssteigerung, die wir als erste Erscheinung der Zytolyse bezeichneten, herbeizuführen, fand auch Peters, daß die Sterblichkeit der Tiere in schwachen $CaCl_2$-Lösungen am kleinsten ist. — Peters fand weiterhin, daß KCl eine spezifische Wirkung auf die Zellteilung der Stentoren ausübt. Nach vorübergehender Behandlung mit stärkeren oder bei dauernder Einwirkung von schwächeren KCl-Lösungen teilen sich die Stentoren rascher als in dem normalen Kulturmedium. Andere Salze zeigten einen solchen spezifischen Einfluß auf die Teilungen nicht. Einige wenige Versuche von Peters mit KCl und NaCl an Paramäzien ergaben eine Verzögerung der Teilungsgeschwindigkeit. Für Paramäzien wurde dagegen Chloroform als teilungsförderndes Mittel erkannt. —

Ich wende mich nun zur Besprechung einer der vielen bedeutenden Infusorienarbeiten von Lorande Loss Woodruff[1]). Und zwar interessieren uns in dieser Arbeit von 1905 vor allem die Versuche des Autors die Teilungsgeschwindigkeit verschiedener hypotricher Infusorien durch einige Salze zu beeinflussen. Ich übergehe dabei die Versuche mit den Phosphaten des Kaliums, weil bei ihnen, erstens einmal mit einer chemischen Einwirkung auf den Stoffwechsel, zweitens aber mit einer Veränderung der Reaktion des Mediums zu rechnen ist, und alle diese Faktoren uns im folgenden weniger interessieren werden. (Aus demselben Grunde lasse ich in der Literaturbesprechung die Angaben einer Arbeit von G. N. Calkins über die Wirkung von Kaliumphosphat auf die Teilungen von Paramäzien im Archiv für Protistenkunde **1** [1902] in der Literaturbesprechung weg.) Zur Untersuchung gelangten KCl und NaCl, KBr, K_2SO_4 und $MgSO_4$. Die Infusorien (und zwar Gastrostyla) wurden entweder einmal oder täglich immer wieder auf 30 Minuten in die reinen Salzlösungen verschiedener Konzentration hineingesetzt und dann wieder in normale Infusion zurückgeführt. Bei dieser Methode der vorübergehenden Behandlung können wir nur dann das Zutagetreten spezifischer Salzwirkungen erwarten, wenn die Salze in der kurzen Zeit überhaupt eindringen, im übrigen werden wohl auch hier, wie in ähnlichen oben besprochenen Fällen die reinen Salzlösungen die ersten Symptome einer Zytolyse eintreten lassen, also je nach der Fällungs- und Quellungswirkung, sowie der Konzentration der Salze zunächst

[1]) L. L. Woodruff, Journ. exper. Zoology **2**, 585—632 (1905).

eine größere oder geringere Permeabilitätssteigerung mit gesteigerter Wasserzufuhr. Dieser letzteren ist es vielleicht zuzuschreiben, daß Woodruff mit all den erwähnten Salzlösungen mit Ausnahme von Magnesiumsulfat bei einmaliger Anwendung eine schwache Steigerung der Teilungszahlen erhielt, und daß diese Steigerung bei den stärker verdünnten Lösungen größer ausfiel. Bei täglich wiederholter Behandlung summieren sich die zweifellos auch vorhandenen schädigenden Wirkungen der beginnenden Zytolyse, und es resultiert dann eben, wie Woodruff bei allen Salzen fand, eine Verzögerung der Teilungsgeschwindigkeit.

In einer späteren Arbeit[1]) studierte Woodruff den Einfluß von kleinen Zusätzen von Alkohol auf die Teilung von Paramäzien und Stylonichien. Er erzielte damit in manchen Perioden des Lebenszyklus der Infusorien eine schwache Steigerung, in anderen ergab sich hingegen eine Verzögerung der Teilungsgeschwindigkeit. Fördert Alkohol die Teilungen, so ist die Wirkung nicht kontinuierlich, sondern vermindert sich schrittweise immer mehr. Ein neuer Alkoholzusatz (d. h. also eine Steigerung der Alkoholkonzentration) kann zu einer neuen Erhöhung der Teilungszahlen führen. In geringen Konzentrationen fördert Alkohol die Aufquellung der Kolloide. Daß er auch auf die Infusorienzellen in diesem Sinne einwirkt (somit nach obigen Erörterungen wieder auch eine Durchlässigkeitserhöhung verursacht), wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die Alkoholtiere nach Woodruff's Befunden gegen gewisse Gifte wie Kupfersulfat empfindlicher sind.

Die Besprechung einer Arbeit von W. A. Matheny[2]) über die Wirkung von Alkohol, die ein negatives Resultat hatte, behalte ich mir für später vor.

Aus zwei Arbeiten über das Verhalten von Infusorien (Paramäzium und Stentor) in destilliertem Wasser, die A. Peters[3]) und J. F. Daniel[4]) veröffentlichten, können wir 1. wieder einmal einen Fall kennen lernen, wie sehr sich verschiedene Rassen von Paramäzien in physiologischer Hinsicht verschieden verhalten können (Daniel), 2. erfahren wir, daß nach einer ganz allmählichen, vorsichtigen Ueberführung (also bei Vermeidung allzu großer osmotischer Differenzen) die Infusorien im destillierten Wasser einige Tage lang am Leben bleiben können (Daniel). Dies Experiment ist das Gegenstück zu der von

---

[1]) L. L. Woodruff, Biol. Bull. **15**, 85—104 (1908).
[2]) W. A. Matheny, Journ. exp. Zoology **8**, 193—204 (1910).
[3]) A. Peters, Amer. Journ. Physiol. **21**, 105—125 (1908).
[4]) J. F. Daniel, Amer. Journ. Physiol. **23**, 48—63 (1908).

P. Enriques (siehe oben) ausgeführten allmählichen Ueberführung von Infusorien in konzentriertere Salzlösungen und spricht wie diese dafür, daß ein allmählicher Ausgleich osmotischer Druckdifferenzen durch das Durchtreten von Salzen durch die Membran zustande kommt. Schließlich gehen die Tiere im destillierten Wasser zu Grunde 1. wegen der zu großen Aufnahme von Wasser in ihr Plasma und 2. wegen der Entziehung ihrer Körpersalze (Peters).

Daß selbst in destilliertem Wasser (bzw. auch reinen Salzlösungen) eine Zeit lang nach der Zellteilung noch ein gar nicht unbedeutendes Wachstum (Längen- und Breitenzunahme) durch reine Wasseraufnahme stattfinden kann, hat A. H. Estabrook[1]) durch direkte Messungen an Paramäzien nachgewiesen. Dieser Befund ist für unsere ganze Arbeit von ganz besonderer Bedeutung. Direkte Größenmessungen, die Estabrook an Paramäzien nach der Teilung in verschieden konzentrierten Kochsalzlösungen vornahm, ergaben, daß eine Erhöhung des osmotischen Druckes über ca. $^1/_{30}$-n Kochsalz in Heuinfusion (= über 1,841 Atmosphären) eine Verminderung des Wachstums zur Folge hat. Bis zu einem Zusatz von $^1/_{30}$-n NaCl zur Heuinfusion ergab sich kein deutlicher Einfluß auf die Größenzunahme. Eine $^1/_{30}$-n NaCl bildet die Grenzkonzentration. Diese Grenzkonzentrationsbestimmung gilt aber nur für NaCl. Sie wird nicht ausschließlich durch den osmotischen Druck bestimmt, sondern auch durch spezifische Eigenschaften der gelösten Stoffe; z. B. liegt für Alkohol die Grenzkonzentration höher. — Die Infusorien sind unmittelbar nach der Teilung gegen stärkere Lösungen von Kochsalz, Alkohol oder Strychnin empfindlicher. — Ein Kochsalzzusatz bis zu $^1/_{20}$-n zeigte in 48 Stunden keinen nennenswerten Einfluß auf die Teilungsgeschwindigkeit der Paramäzien.

Zum Schlusse sei noch einer Arbeit von J. Zweibaum[2]) über die Beeinflussung der Neigung der Paramäzien zu konjugieren durch Salze erwähnt, in der der Verf. nebenbei auch Angaben über die Wirkung der Salzlösungen auf die Teilungen der Tiere macht. Sehr bedenklich erscheint mir an Zweibaum's Methode, daß er als Kontrolle eine Infusion mit einem sehr reichen Zusatz von destilliertem Wasser benutzt (nämlich 3 vol. dest. Wasser auf 1 vol. der starken Kulturflüssigkeit). Die Vermutung liegt sehr nahe, daß diese Kontrollösung physiologisch nicht gerade sehr günstige Entwickelungsbedingungen

[1]) A. H. Estabrook, Journ. exp. Zoology 8, 489—534 (1910).

[2]) J. Zweibaum, Arch. f. Protistenk. 26, 275—393 (1912).

bietet, und es ist nicht anders zu erwarten, als daß dann kleine Zusätze der verschiedensten Salze zu dieser „Kontrolle“ für die Teilungen „très favorable“ sein müssen.

Untersuchungsmethoden.

Die überwiegende Mehrzahl meiner Versuche führte ich mit Paramaecium caudatum (Ehrenberg) aus. Nur zu wenigen Experimenten wurde vergleichshalber auch Paramaecium aurelia (Müll.) und Stylonichia mytilus (Müll.) herangezogen.

Während der ganzen Dauer meiner Untersuchungen hielt ich mir immer Stammkulturen von Paramaecium caudatum. Diese wurden mit bestem Erfolg stets in der Weise angesetzt, daß zu Tümpelwasser mit Fadenalgen ein Stückchen Steckrübe zugesetzt wurde. Nach 24—48 Stunden (je nach der Temperatur früher oder später) hatten sich dann stets so viele Bakterien der verschiedensten Art entwickelt, daß zu einem guten Gedeihen von Paramäzien die besten Bedingungen geboten waren. Nach zirka zwei Tagen müssen die Rüben entfernt werden. Wenn die Stammkulturen nicht besonders geimpft worden waren, so vermehrten sich die mit den Algen oder andern Pflanzen eingeführten wenigen Paramäzien in ungefähr acht Tagen so sehr, daß Millionen im Wasser (meist an der Oberfläche, am Rande des Wassers) zu finden waren. Wurden neuangesetzte Kulturen aus alten besonders geimpft, so fand man natürlich in noch kürzerer Zeit einen solchen Reichtum an den Tieren vor. Die Stammkulturen wurden im Halbdunkel gehalten. Von Zeit zu Zeit muß durch neues Einlegen von Rübenstückchen die Bakterienflora vermehrt werden. In den Rübenkulturen kommen andere Infusorien nur in den seltensten Fällen zur Entwickelung. Das Einlegen von tierischen Substanzen, wie Fleisch, Fibrin usw. ist nicht zu empfehlen; in den ersten Tagen entwickeln sich zwar solche Kulturen sehr gut, meistens gehen sie aber dann, weil sich wahrscheinlich giftige Fäulnisprodukte bilden, ganz plötzlich vollständig ein. Rübenkulturen können wochenlang gehalten werden, es empfiehlt sich aber ab und zu die Tiere in neuangesetzte Kulturen überzuimpfen.

Einzelne Tiere der Stammkulturen wurden in Uhrschälchen mit flachem Boden in Heuinfusion isoliert. Mit Abkömmlingen dieser In-ividuen, und zwar den 2, 4 oder 8 der 1., 2. oder 3. Generation, legentlich aber auch mit möglichst gleich großen Tieren späterer erationen wurden die Experimente angesetzt. In diesen ging ich

stets von Einzeltieren aus. Zu jeder Kultur mit einem Salzzusatz wurde stets eine Kontrolle mit einem Schwestertier angesetzt, welches in reiner Infusion unter sonst gleichen Bedingungen gezüchtet wurde.

Die Heuinfusionen wurden in der Weise hergestellt, daß in ein Becherglas mit 300 ccm Leitungswasser Heu lose, ohne es hineinzupressen, eingefüllt und zehn Minuten lang auf siedendem Wasserbade gekocht wurde. Viele Monate hindurch setzte ich meine Infusionen mit altem Heu an, das seit mehreren Jahren in unserem Institut lag. Es war für diesen Zweck sehr gut geeignet. Wie stets bei gemischtem Wiesenheu fielen die Infusionen zwar nicht immer ganz gleich aus, waren aber immer sehr gut zu gebrauchen. Sie hatten etwa Kognak-Farbe. Frisches Wiesenheu auf dieselbe Weise aufgekocht, war für die Kulturen gänzlich ungeeignet, da sich darin viel zu viele Bakterien entwickelten. Selbst in stark verdünntem Zustand kamen diese Infusionen denen des alten Heues nicht im geringsten gleich[1]). Setzte man Tiere in diese Frischheu - Infusionen ein, so führten sie zuerst meistens heftige Fluchtbewegungen aus und entwickelten sich nur kümmerlich. Ich fand dann, daß eine an Wegrändern häufige feinhalmige Grasart (Festuca sp.), die im Spätsommer und Herbst noch in vertrockneten Rasenpolstern gefunden werden kann, in diesem Zustand gesammelt gleich in der obigen Weise zu Infusionen aufgekocht werden kann, in denen sich die Paramäzien vorzüglich entwickeln. Ich kochte dieses Heu 20 Minuten lang auf und verdünnte dann nachher die Infusion 1:3 mit destilliertem Wasser, so daß sie etwa weingelb aussahen. Die Infusionen fielen stets sehr gleichartig aus. — Ich versuchte dann auch noch durch Aufkochen von Rübenstückchen ein brauchbares Kulturmedium herzustellen, doch machte ich damit ziemlich schlechte Erfahrungen. Auch Aufgüsse von Fibrin oder von Liebig's Fleischextrakt verwendete ich gelegentlich, doch hatten sie, wie später berichtet werden soll, besonders für bestimmte Versuche auch ihre Nachteile.

Eine Infusion wurde fünf bis höchstens acht Tage lang zum Neuansetzen von Kulturen verwendet. Nach diesem Zeitraum — je nach der Temperatur früher oder später — beginnen sich die Bakterien allmählich am Boden des Gefäßes abzusetzen und die Infusion verliert

[1]) Ich machte überhaupt mit den meisten Sorten von gutem Futterheu (auch mit einjährigem) recht schlechte Erfahrungen. Sie scheinen gewisse Substanzen zu enthalten, die in der Infusion den Infusorien schädlich sind und di nur eine langsame, zum Teil recht unregelmäßige Vermehrung der Kulturen lauben. Ob jedes Heu durch langes Lagern allmählich für Infusionen gut eignet wird, ist mir zweifelhaft.

sehr viel an Güte. Die große Menge der Infusion wurde stets in einem kühlen Raum in geschlossenen Gefäßen aufbewahrt.

Gute Infusionen müssen die Bakterien in möglichst gleichmäßiger Verteilung und in einer solchen Menge enthalten, daß sie nur eine feine Trübung zeigen, ohne daß sich dicke Wolken, Flocken oder oberflächliche Häute von Bakterien bilden. Solche stärkere Anreicherungen von Bakterien ließen sich in den Aufgüssen von Frischheu, von Fibrin oder Fleischextrakt nur schwer vermeiden.

In den kleinen Kulturgefäßen beginnen die Bakterien bei der Versuchstemperatur von ca. 26° sich schon nach etwa 48 Stunden in größeren Mengen am Boden abzusetzen, so daß die obenstehende Flüssigkeit ganz klar wird. Diesen Ueberzug auf dem Boden der Gefäße suchen die Infusorien nicht auf, offenbar besteht er aus abgestorbenen Bakterien. — Meine Infusionen reagierten sehr schwach alkalisch, sie waren nahezu neutral.

Ich setzte meine Kulturen stets in runden Glasschälchen (Kristallisierschälchen) mit wagerechten Wänden und einem Durchmesser wie einer Höhe von ca. 20 mm an. In jedes Schälchen wurden 7 ccm Infusion gegossen. Die Größe des Schälchens und das Quantum der Infusion eines Kontrollversuches stimmten mit dem des Salzversuches überein. Die Schälchen wurden mit einem Glasdeckel zugedeckt, und je vier oder sechs Schälchen wurden in eine flache Glasdose mit Deckel, die am Boden etwas feuchten, mit Filtrierpapier überdeckten Sand enthielt, hineingesetzt. Diese feuchten Kammern wurden in einem Wärmeschrank bei 24—26° C gehalten.

Die Zahl der Tiere in den stets mit einem einzelnen Tier angesetzten Kulturen, wurde jeden oder jeden zweiten Tag durch Zählen festgestellt, und dabei die Infusion gewechselt. Fast in allen Fällen wurden jeweils a l l e Tiere weitergezüchtet. Die Kulturen wurden vier bis sieben Tage weitergeführt, bis die Zahl der Tiere in den einzelnen Kulturen so groß wurde, daß ein genaues Zählen nicht mehr recht möglich war, oder aber bis sich ein bleibender deutlicher Unterschied zwischen der behandelten und der unbehandelten Kultur feststellen ließ.

Das Zählen der Kulturen wurde in folgender Weise ausgeführt: Der Inhalt der Kulturschälchen wurde vorsichtig, so daß kein Tropfen verloren ging, in ein hohes, dickwandiges Uhrschälchen mit flachem Boden ausgegossen, etwa ein ccm neue Infusion wurde noch ins hälchen nachgegossen und auch dieser bis zum letzten Tropfen aus n Schälchen mit einer dickeren Pipette aufgesaugt und ins Uhrchen ausgeleert. Mit der Präparierlupe konnte man dann noch

einmal kontrollieren, ob nicht doch noch einige Tiere im Schälchen geblieben waren, so daß ein nochmaliges Nachspülen notwendig geworden wäre. Aus dem Uhrglas wurden nun die Tiere mit etwa 30 cm langen, feinen Kapillarpipetten mit kurz abgefeiltem, meist nicht mehr als 8 mm langem Mundstück[1] unter der Präparierlupe bei zehnfacher Vergrößerung einzeln aufgelesen und dabei gezählt. In eine gut ziehende Pipette konnten auch 150, oder gar noch mehr Paramäzien aufgenommen werden, so daß man nicht oft den Inhalt der Pipette ins Kulturschälchen (mit der neuen Infusion) auszublasen brauchte. Wenn die Pipetten gut funktionieren, und man in der Methode schon etwas gewandt ist, ist das Zählen einer Kultur von 1000 Tieren auf diese Weise gar keine besondere Leistung mehr. Um ein Verzählen in größerem Umfang zu vermeiden, empfiehlt es sich, etwa jedes Hundert auf einem Merkblatt aufzunotieren. Bei entsprechender Aufmerksamkeit des Zählenden läßt die Methode an Genauigkeit gar nichts zu wünschen übrig. Zur Kontrolle zweimal gezählte Kulturen ergaben stets in befriedigender Weise übereinstimmende Zahlen.

Unsere beschriebene Arbeitsmethode gestattet immerhin noch die Untersuchungen in nicht allzu großem Zeitraum auf ziemlich viele Paramäzien ganz verschiedener Herkunft auszudehnen. Auf eine solche Untersuchung der Allgemeingültigkeit der gewonnenen Resultate für Paramäzien der verschiedensten Rassen muß schon aus dem Grunde ziemlich viel Gewicht gelegt werden, weil ja die meisten Autoren große Verschiedenheiten im physiologischen Verhalten verschiedener Rassen erkennen konnten. Aus diesem Grunde habe ich mich vorläufig nicht auch der Methode von Calkins und Woodruff (loc. cit.) bedient, d. h. nicht einige reine Linien monatelang täglich genau auf ihre Teilungsgeschwindigkeit untersucht und diese mit der der behandelten Kulturen verglichen; bei diesem Verfahren hätte ich die Zahl der Einzelversuche ganz bedeutend einschränken müssen und hätte eben schließlich nur gewußt, wie die wenigen lange fortkultivierten Linien sich verhalten; die Entdeckung einiger Rassen von ganz besonders interessantem Verhalten wäre mir wohl auf diese Weise gar nicht geglückt. Es dürfte sich aber lohnen nachträglich einige meiner Salzversuche nun auch nach der Woodruff'schen Methode lange Zeit und kontinuierlich fortzuführen. Ich vermute, daß jedes Salz, welches in den von mir

---

[1]) Das Mundstück muß so kurz gemacht werden, weil man die Pipet[illegible] beim Zählen, um die Hand auf die Lupe auflegen zu können, weit vorne [illegible] fassen muß, so daß sie natürlich abbrechen müßte, wenn das Mundstück zu [illegible] und zu schwer ist.

benützten Konzentrationen kontinuierlich lange Zeit auf die Zellen einwirkt, schließlich eine Verminderung der Zellteilungen hervorruft, auch wenn es anfangs teilungsfördernd wirkte (genaueres über diesen Gegenstand siehe weiter unten). Daß eine reine Linie von Paramäzien im Lauf der Zeit ihr physiologisches Verhalten allmählich ändern kann, kann natürlich auch festgestellt werden, wenn sie in zeitweilig gewechselten Infusionen weiter kultiviert, nur von Zeit zu Zeit einmal untersucht wird. Die Woodruff'sche Methode würde da nur den Vorteil bieten, daß man noch feststellen könnte, ob eine etwaige Aenderung der physiologischen Eigenschaften der Tiere mit einer periodischen Schwankung (einer Erhöhung oder Verminderung) der täglichen Zahl der Teilungen der Linie (einem „Rhythmus" im Sinne Woodruff's) zusammenfällt. Diesen Vorteil darf man aber nicht zu sehr überschätzen. Da wir nämlich die Ursachen und überhaupt die ganze physikalisch-chemische Analyse dieser Teilungsrhythmen nicht genauer kennen, sagen uns diese Zusammenhänge doch nur wenig. Meinen Erfahrungen nach sind die Teilungsrhythmen in erster Linie doch nur durch geringfügige Aenderungen des Kulturmediums bedingt (auch eine nach demselben Rezept hergestellte Infusion kann ja doch nicht immer ganz gleich ausfallen), diese Aenderungen aber dürften von Fall zu Fall anderer Natur sein, so daß a priori gar nicht zu erwarten ist, daß man, wenn man einmal in einigen Fällen ein zeitliches Zusammenfallen eines Rhythmus mit einem geänderten Verhalten der Tiere zu einem Salze oder dergl. konstatieren konnte, diese Parallelität in allen Fällen, wenn die Teilungskurve in der gleichen Weise steigt oder fällt, wiederfinden wird. Die Erfahrungen Woodruff's bei der Alkoholbehandlung der Infusorien (loc. cit.), bei der sich gelegentlich (!) in Perioden steigender Teilungsgeschwindigkeit eine fördernde Wirkung des Alkohols ergab, verglichen mit Versuchsresultaten von W. A. Matheny (loc. cit.), der bei andern Paramäzienrassen auch in den betreffenden Perioden des Lebenszyklus eine fördernde Wirkung des Alkohols überhaupt nicht erkennen konnte, beweisen das Gesagte zur Genüge.

Wie schon vielfach gefunden wurde, sinkt die tägliche Teilungszahl von Paramäzien, die lange in Heuinfusion gehalten werden, schließlich in kurzer Zeit ganz bedeutend, ihr „Lebenszyklus" geht zu Ende (Woodruff), sie treten in ein Depressionsstadium ein, das aber sogleich überwunden wird, wenn den Tieren ein anders (phosphorhaltiges) [Me]dium geboten wird. Diese Erfahrungen kann ich auch bestätigen. [...]rn z. B. Tiere einer Rasse, von der immer wieder neue Versuche

angesetzt werden, in reiner Infusion, durchschnittlich 600 Tochterindividuen in vier Tagen, so erhält man im Depressionsstadium kaum 30 oder 40, und unter diesen eventuell auch anormale Formen. Setzt man mit solchen Tieren des Depressionsstadiums Salzversuche nach der gleich zu beschreibenden Art an, so fallen sie fast in allen Fällen negativ aus, und der Prozentsatz anormaler Individuen kann in den Salzkulturen ein sehr hoher werden. Gewöhnlich gehen dann schließlich die Kulturen wenigstens teilweise auch ein. Versuche mit degenerierten Linien werden im folgenden nicht publiziert werden.

A. H. Estabrook (loc. cit. S. 504) bestimmte den osmotischen Druck seiner Heuinfusion auf 0,44 Atmosphären und setzte ihn ungefähr einer etwas über 0,01 - n NaCl - Lösung in destilliertem Wasser gleich. Er fand dann weiter, daß man, wenn man dieser Infusion ein so indifferentes Salz wie NaCl zufügt, den osmotischen Druck noch um etwa das Dreifache erhöhen kann ohne durch etwaige Wasserentziehung das Volum der Tiere zu vermindern und ihr Wachstum zu verzögern. Bei Verwendung weniger indifferenter, etwa auch nur leichter eindringender, physiologischer Salze hätte man die physiologische Grenzkonzentration zweifellos etwas niedriger zu setzen, jedenfalls lernen wir aber auch schon aus den Angaben Estabrook's den für Paramäzien ungefähr gültigen physiologischen Konzentrationsbereich kennen. Eigene Vorversuche, die ich mit verschiedenen reinen Salzlösungen von variierender Konzentration anstellte, bevor ich noch die Literaturangaben kannte, führten mich in guter Uebereinstimmung mit Estabrook zu dem Resultat, daß die Tiere in einer Salzlösung von etwa 0,015- bis 0,025-m am längsten am Leben bleiben. Da die verschiedenen Infusionen doch nicht ganz gleich konzentriert ausfallen, und die Infusorien immerhin eine ziemlich große Variation des osmotischen Druckes vertragen, sah ich von einer genaueren Bestimmung des osmotischen Druckes der Infusionen ab und wandte bei allen Salzversuchen das Verfahren an, daß ich zu je 19 ccm reiner Infusion im Durchschnitt 1 ccm einer reinen 0,3-m Salzlösung in destilliertem Wasser zusetzte (so daß also der Salzzusatz etwa 0,015-m betrug), und daß ich die Tiere dauernd in diesen Salzinfusionen kultivierte. Wie gut diese Vorberechnung war, ging bei meinen Versuchen dann daraus hervor, daß ausgesprochene spezifische Salzwirkungen bei Verringerung des Salzzusatzes auf 0,4 ccm (immer auf 19 ccm Infusion) nicht mehr zu Tage traten, während in weniger indifferenten Sa[illegible] lösungen ein Salzzusatz von 1,4 — 1,5 ccm die Teilungen schon [illegible] ganz sistieren kann. In meinen Tabellen werde ich die zu 19[illegible]

Infusion zugesetzten ccm der immer 0,3-m starken Stammlösung der Salze immer unter der Nummer des Versuches (z. B. NaCl 6) rechts unten anführen. Um gleich auch die übrigen Einzelheiten meines Tabellenformates zu besprechen, sei noch angegeben, daß bei jedem Versuch die Salzkultur mit einem großen Buchstaben, die unbehandelte Kontrolle mit einem kleinen Buchstaben bezeichnet ist, also z. B. NaCl 6 A (behandelt), a (Kontrolle). Sind unter derselben Versuchsnummer mehrere Versuche angegeben, also z. B. NaCl 6 A-a, B-b, C-c, so heißt das, daß alle diese Kulturen A-a, B-b, C-c des Versuches NaCl 6 mit Schwestertieren ausgeführt wurden. Alle Tabellen sind horizontal zu lesen. Die Zahlen in der 1., 2., 3., 4. usw. Rubrik von links nach rechts geben die Zahl der Tiere am 1., 2., 3., 4. usw. Tag an. Leere Felder bedeuten, daß an dem betreffenden Tag keine Zählung vorgenommen wurde. Etwaige Angaben der Paramäzienlinie finden sich rechts über der Versuchsnummer.

* * *

Ich kann mich nun zu der Besprechung meiner eigenen Versuchsreihen wenden. Ich werde die Versuche mit den Salzen nach der Quellungsreihe der Kationen folgen lassen, also mit den Lithiumsalzen beginnen und den Kalziumsalzen die Serie beenden. Trotzdem ich die Versuche länger als ein Jahr fortgesetzt habe, sind leider doch noch einige lückenhaft geblieben. Solange ich Paramäzienmaterial von ganz gleichem physiologischem Verhalten hatte, schritt die Arbeit sehr rasch fort. Als sich aber dann große Unterschiede im Verhalten verschiedener Linien ergaben, entstanden für die Untersuchung beträchtliche Schwierigkeiten. Gerade der Kernpunkt der Versuchserien sollte ja ein Vergleich zwischen den spezifischen Wirkungen verschiedener Salze sein, dieser aber ließ sich in exakter Weise natürlich nur durchführen, wenn das Untersuchungsmaterial sich gleichen Salzen gegenüber gleich verhielt. Es entstand mit andern Worten für den Untersucher die Aufgabe, zu Versuchen, die mit einem Salz an einer bestimmten Linie ausgeführt wurden, immer auch Kontrollversuche mit möglichst vielen andern Salzen auszuführen. Man durfte es sich eben nicht verdrießen lassen, Versuche mit demselben Salze immer wieder aufs neue anzusetzen.

Der Einfluß der Lithiumsalze auf die Zellteilung.

Ich begann meine Untersuchungen mit dem Studium der Wirkung des Lithiumchlorids. Die ersten LiCl-Versuche wurden im Winter 1917/18 an ganz beliebig aus den Rübenstammkulturen herausgenommenen Tieren ausgeführt. Die Resultate dieser Versuche stimmten alle ohne Ausnahme so gut überein, waren so eindeutig, daß ich ohne vorhergehende erklärende Ausführungen gleich die Zählungsergebnisse derselben mitteilen kann. Nur auf einen Punkt will ich gleich hier aufmerksam machen. Die Temperatur bei diesen ersten Versuchen war etwas niedrig, nämlich knapp 22⁰. Die Zimmertemperatur war in den kalten Wintertagen ebenfalls niedrig, am Tage oft nur 14⁰, in der Nacht noch weniger. Bei dieser Zimmertemperatur standen die Stammkulturen. Beim Zählen kühlten die Kulturen auch aus. Dieser Umstand und weiterhin meine damaligen Infusionen, die etwas bakterienarm waren, verursachten es, daß die Zahlen bei diesen Versuchen verhältnismäßig kleiner waren als bei den meisten späteren. Zum Teil ist wohl auch die Rasse daran schuld.

Wie man sehen kann, bestätigten die mitgeteilten Lithiumchloridversuche die Richtigkeit unserer theoretischen Vorstellungen in vorzüglicher Weise. In allen den zwanzig Versuchen war das Endresultat eine ganz beträchtliche Steigerung der täglichen Teilungen der Paramäzien, so daß nicht selten eine zehnfache, manchmal auch sogar eine zwanzigfache Anzahl von Tieren nach den wenigen Tagen in den Salzkulturen zu finden war. Einige weitere mit demselben Paramäzienmaterial angesetzte Versuche, die ebenfalls positiv ausgefallen waren, habe ich in der Tabelle wegen kleiner Inexaktheiten nicht angeführt. — Es muß nun noch die Frage nach etwaigen Unterschieden im Bakteriengehalt der Kulturen erörtert werden. Es wäre ja nicht unmöglich gewesen, daß das LiCl auch auf die Bakterien teilungsfördernd gewirkt hätte. Während meiner ganzen langen Arbeitsperiode, in der ich oft genug Lithiumversuche ansetzte, habe ich aber nicht die geringste Andeutung von einer stärkeren Vermehrung der Bakterien in den Salzkulturen erkennen können. Ja, es ergab sich mir sogar immer wieder, daß die Teilungszahlen in den Lithiumkulturen in ziemlich bakterienarmen Infusionen noch viel höher ausfallen als in sehr bakterienreichen Medien. (Mit dieser Erscheinung werden wir uns später noch zu beschäftigen haben.) Ein Bakterienunterschied zwischen der LiCl-Infusion und der reinen kann höchstens auf die folgende Weise entstehen: Wie erwähnt, setzen sich in alten

Tabelle I. Lithiumchlorid (Material: Winter 1917/18).

LiCl 1	1,0	A	1	9	36	265	—	—
		a	4	16	30	95	—	—
LiCl 2	1,0	A	1	4	16	30	60	—
		a	2	4	6	6	12	—
LiCl 3	1,0	A	5	18	72	897	—	—
		a	4	12	23	78	—	—
LiCl 4	1,0	A	4	71	253	—	—	—
		a	4	30	57	—	—	—
LiCl 5	1,0	A	4	68	210	—	—	—
		a	4	23	27	—	—	—
LiCl 6	1,0	A	6	63	208	—	—	—
		a	5	29	31	—	—	—
LiCl 7	1,0	A	4	17	120	234	—	—
		a	4	15	15	22	—	—
LiCl 8	1,0	A	2	12	120	—	—	—
		a	2	8	13	—	—	—
LiCl 9	1,0	A	—	12	33	54	—	—
		a	—	11	17	29	—	—
LiCl 10	1,2	A	4	8	15	19	195	500
		a	4	8	14	75	202	230
LiCl 10	1,0	B	4	8	18	24	745	—
		b	4	8	16	45	158	—
LiCl 10	1,0	C	4	12	19	30	525	—
		c	4	12	27	94	151	—
LiCl 11	0,8	A	4	11	16	65	1010	—
		a	4	11	80	216	300	—
LiCl 11	0,6	B	3	9	38	150	520	933
		b	4	8	39	82	85	161
LiCl 11	0,4	C	4	11	19	127	540	—
		c	2	8	45	140	147	—
LiCl 12	1,0	A	16	240	785	—	—	—
		a	12	49	49	—	—	—
LiCl 12	0,8	B	16	257	833	—	—	—
		b	8	47	47	—	—	—
LiCl 12	1,0	C	8	116	430	—	—	—
		c	8	29	29	—	—	—
LiCl 12	0,8	D	8	150	492	—	—	—
		d	8	16	20	—	—	—
LiCl 13	1,3	A	8	30	192	—	—	—
		a	2	4	10	—	—	—

Infusionen die Bakterien am Boden ab, so daß die Flüssigkeit bakterienleer wird. Es schien mir nun, daß dieses Absetzen der Bakterien (Absterben?) in den Lithiuminfusionen etwas langsamer erfolgt und dann eben erst etwa 24 Stunden später beendet ist als in den reinen Infusionen. Diese Wirkung des Lithiums auf die Bakterien zeigte sich nicht bei allen Arten von Infusionen. Bei manchen war sie entweder überhaupt nicht wahrzunehmen, oder sie stellte sich erst ein, wenn die Kulturen längere Zeit standen, ohne gewechselt zu werden. Wenn man die Infusionen alle 24 Stunden wechselt, läßt sich der Unterschied im Absinken der Bakterien überhaupt ganz vermeiden, selbst bei 48 stündigem Wechsel bleibt er bei den meisten Infusionen auf ein Minimum reduziert. Sehr alte Infusionen, bei denen die Bakterien an sich schon (auch in großen Gefäßen) die Neigung haben, sich abzusetzen, dürfen für Lithiumversuche nicht verwendet werden. Versuche, in denen sich trotz Vorsichtsmaßregeln der erwähnte Bakterienunterschied einstellte, wurden ausgeschieden.

Gerade Versuche, die einen außerordentlichen Zahlenunterschied ergeben hatten, d. h. stark positiv ausgefallen waren, zeigten auch nicht den geringsten Unterschied in ihrem Bakteriengehalt. Ja, für einige Infusionen von dem letzten Rest meines alten Heues ergab sich regelmäßig eine ganz bedeutende Verminderung der Vermehrung der Bakterien bei LiCl-Zusatz. (Die Versuche werden unten noch besprochen werden.) Trotzdem wirkte das LiCl sehr stark teilungsfördernd. Bei Infusorienmaterial, das in seiner Vermehrung durch LiCl nicht gefördert wird, ließ ich absichtlich Kulturen so lange ungewechselt, bis sich die Bakterien in der reinen Infusion der Kontrolle absetzten, während sie in der LiCl-Infusion wenigstens zum Teil noch schwebten, trotzdem stellte sich überhaupt kein Zahlenunterschied im Sinne einer Teilungsförderung ein. In einigen Versuchen mit Lithiumsulfat (siehe später) wurden die Kontrollen rascher bakterienleer als die Salzkulturen. Die Versuche fielen trotzdem negativ aus. Der minimale Bakterienunterschied der beschriebenen Art, der von einem geübten Auge unter der Präparierlupe (an der man das Licht durch eine kleine Blende einfallen läßt, so daß man seitlich auf das Lichtbündel blicken kann) eben noch erkannt werden kann, übt eben höchstens einen sehr geringen Einfluß auf die Zellteilungen aus, der jeweils viel geringer ist als die betreffende spezifische Salzwirkung.

Infusionen meines alten Heues zeigten bei LiCl-Zusatz stets eine ganz zarte Opaleszenz. Diese rührte nicht irgendwie von Bakterien her, denn sie war auch in alten Infusionen zu sehen, in denen die

Bakterien schon ausgefallen waren, und die Flüssigkeit (über dem Bodensatz) nach bakteriologischen Färbemethoden untersucht, sich als so gut wie bakterienleer erwies. Ich vermute, daß es sich um eine ganz feine Ausfällung kolloider Substanzen der Heuinfusion handelte.

Alle Tiere der Lithiumkulturen sahen vollständig normal, d. h. nie irgendwie morphologisch verändert aus. Auch Tiere, die ich wochenlang in einer mit LiCl ungefähr in denselben Konzentrationen versetzten Rüben-Algenkultur züchtete, wiesen keine wesentlichen Veränderungen auf. Die zuführenden Kanäle der Vakuolen sahen zwar etwas unregelmäßig aus, doch fand ich das bei Tieren derselben Rasse auch in einer Kontrollkultur ohne Lithiumzusatz.

Vom zweiten oder dritten Tag an unterschieden sich die Lithiumtiere von den Kontrolltieren in den obigen Versuchen dadurch, daß sie deutlich dicker waren. Wenn man die Kulturen unter der Präparierlupe betrachtete, war für einen geübten Beobachter der Unterschied schon ganz auffällig. Mit Mikroskop und Mikrometerokular ließ er sich dann sicher feststellen. Genauere Messungen an einer größeren Anzahl von Tieren sollen bei späterer Gelegenheit einmal noch ausgeführt werden. Nur wenn sich die Tiere in ganz kurzer Zeit besonders rasch geteilt hatten, ging ihr durchschnittliches Volum etwas zurück. Da sich der Volumunterschied auch bei Versuchen zeigte, deren Kontrollen viel bakterienreicher waren, ist damit am sichersten zu zeigen, daß er nicht durch bessere Fütterung der Lithiumtiere verursacht sein konnte. Erinnern wir uns der Estabrook'schen Versuche (loc. cit.), die die Bedeutung der Wasseraufnahme für das Wachstum der Paramäzien nachwiesen, erinnern wir uns weiterhin, daß das Lithiumion die Quellung der Kolloide mächtig fördert, so liegt die Erklärung ganz auf der Hand, daß der erwähnte Volumunterschied von einer stärkeren Wasserabsorption der Lithiumtiere herrührt.

Eine starke Quellungsförderung einerseits und eine kräftige Fällungswirkung andererseits, das sind nach meinen in meiner Gastrulaarbeit ausführlich auseinandergesetzten Anschauungen (loc. cit. 1918, 2) die beiden Hauptfaktoren, die das Lithiumion zu spezifischen physiologischen Wirkungen befähigen können. Was bei meinen Paramäzienversuchen durch die gesteigerte Wasserabsorption bewirkt wird, ist erstens die starke Teilungsförderung, zweitens die Volumzunahme. Für eine Folge der durch die Lithiumionen herbeigeführten oberflächlichen feinen Niederschlagsbildung in den Plasmakolloiden der Paramäzien scheint mir folgendes zu sprechen: Vergleicht man in Tabelle I

die Zählungen genau, so wird man mehrere Versuche finden, in denen das Lithium in den ersten Tagen nicht nur keine Steigerung der Teilungszahlen hervorruft, sondern sogar eine mitunter gar nicht geringe Teilungsverzögerung, der dann erst später eine plötzliche starke Vermehrung folgt. Die Zeitdauer der Teilungshemmung ist verschieden lang; in Versuchen 1 und 2 ist sie nur kurz, in den Versuchen 10 und 11 ist sie ziemlich lang. In der Versuchsserie 12 z. B. geht die Zahlenkurve der Lithiumtiere von allem Anfang in ganz kurzer Zeit stark in die Höhe, trotzdem, wie die Kontrollen zeigen, die Infusionen ziemlich arm an Nahrung waren. Auch die Temperatur scheint auf die Dauer der negativen Periode einen Einfluß zu haben. Es blieben z. B. einige Versuche mit LiCl, die ich bei Zimmertemperatur hielt, solange sie bei 16° standen, negativ oder mit der Kontrolle gleich, als sie am dritten Tage in eine Temperatur von 22° überführt wurden, zeigte sich sehr rasch ein Dickenunterschied und schon zwölf Stunden nach der Uebertragung fiel die Zählung positiv aus. Die Erklärung, die ich zu diesen Beobachtungen gebe, ist nun folgende: In Berührung mit den Membrankolloiden oder sobald geringe Salzmengen einmal die Membranen passiert haben und ins Innenplasma gelangt sind, ruft das LiCl eine feine Koagulierung der Zellkolloide hervor. Diese bewirkt (ich verweise auch auf das in der Einleitung Gesagte) eine Durchlässigkeitsverminderung, so daß einstweilen weitere Salzmengen nur schwer in die Zelle gelangen und der Unterschied im Salzgehalt zwischen dem Außenmedium und dem Zellinnern erhalten bleibt. Die osmotische Druckdifferenz könnte vielleicht auch zu einer kleinen Wasserentziehung führen; oder aber ist die Permeabilitätsverminderung so stark, daß auch der Wasserdurchtritt schon erschwert wird, so daß auch schon die Aufnahme der normalen Wassermenge in den Zelleib in Frage gestellt wird. Allmählich wird nun aber die andere durch das Lithiumion bewirkte Zustandsänderung der Zellkolloide (oder doch bestimmter Kolloide) immer größer, ich meine die Quellungsförderung. Bei den schwachen Salzkonzentrationen meiner Versuche dauert es (wie auch bei entsprechenden Reagenzglasversuchen) ziemlich lange, bis diese Aufquellung einen gewissen Grad erreicht hat, in dem sie dann auch physiologisch wirksam wird. Je nach dem Reichtum des Plasmas verschiedener Tiere an gut quellbaren Kolloiden variieren diese Verhältnisse etwas. Ein Dickenunterschied ließ sich in den meisten Versuchen erst zwei oder gar drei Tage nach dem Einsetzen der Tiere in die Lithiuminfusion erkennen. Bezüglich der Wasserversorgung der Zelle tritt nun also gerade das Gegenteil von

dem Zustand der ersten Periode ein und bewirkt den Umschlag in der Beeinflussung der Teilungen. Durch die gequollenen oberflächlichen Kolloide gelangt auch in das Innere der Zelle leichter Wasser. Auch neues Salz dringt in die Zellen ein, dürfte aber immer wieder neue Niederschlagsbildungen in der Oberflächenregion der Zelle eintreten lassen, so daß in das Innerste der Zelle und zum Kern doch nur wenig LiCl diffundieren kann. Durch die kontraktilen Vakuolen wird ja wahrscheinlich auch eine gewisse Menge von Salzen aus dem Zellkörper wieder entfernt werden. Die prädominierende Wirkung des Lithiumchlorids in der zweiten Periode ist und bleibt dann die starke Quellungsförderung.

Für die Existenz noch einer anderen spezifischen Einwirkung des Li-Ions auf die Zellen außer der Quellungssteigerung spricht auch noch folgende Erscheinung: Ein Zusatz von 1,3 ccm 0,3-m-LiCl-Lösung zu 19 ccm bewirkt noch die typische Teilungsförderung. Man brauchte aber bei meinem Paramäzienmaterial vom Winter 1917/18 die Konzentration der LiCl in der Infusion nur auf 1,5 ccm zu erhöhen, so hörten die Teilungen der Tiere in ihnen fast ganz auf. Tagelang blieb immer nur noch das eine einzige Ausgangstier in der Li-Kultur zu finden.

Bei einem kontinuierlichen Anstieg der Salzkonzentration tritt also eine sprunghafte Aenderung der physiologischen Wirkung ein. Daß eine so geringe Erhöhung des osmotischen Druckes zumal bei diesem Zustand gesteigerter Durchlässigkeit in dieser Weise in Aktion tritt, ist sehr unwahrscheinlich. Gerade osmotische Verhältnisse würden eine kontinuierliche Aenderung erwarten lassen. Irgend eine Schrumpfung, Faltenbildung oder dgl. war auch gar nicht zu erkennen. Die Paramäzien sahen überhaupt unverändert aus, auch von einer abnorm gesteigerten Wasserabsorption war andererseits nichts zu bemerken. Auch die Quellungssteigerung hätte ja bei den gegebenen Verhältnissen kaum sprunghaft hinaufschnellen können. Es blieb also nur übrig, eine beträchtlichere Steigerung der Fällung der Kolloide durch das LiCl anzunehmen. Ganz abgesehen von der erhöhten Konzentration selbst, wird unter den gegebenen Umständen auch schon wegen der noch etwas gesteigerten Quellung (Permeabilitätssteigerung!) mehr LiCl in die Zellen eindringen. Bei einer Steigerung der Konzentration eines Fällungsmittels aber kann sehr wohl eine sprungweise Steigerung der Ausfällung stattfinden, die dann eben wenigstens in mancher Beziehung die Grenze des physiologischen überschreitet. Die Zellen gehen noch nicht ein, aber der Teilungs-

mechanismus ist in irgend einer Weise schon geschädigt. — Wie die Versuche der Tabelle I zeigen, ergab sich zwischen der Wirkung verschiedener Konzentrationen im Bereich von 0,4 bis 1,3 ccm (auf 19 ccm Infusion) kein überzeugender Unterschied.

Die erste Nachprüfung der LiCl-Versuche machte ich im Mai 1918 an einige Wochen vorher ganz neu, mit anderm Tümpelwasser angesetzten Kulturen. Es ergab sich, daß dieses Material zum Teil ganz anders reagierte. Der größere Prozentsatz der Tiere aus den Stammkulturen wurde in ihrer Vermehrung durch einen LiCl-Zusatz in den oben benützten Konzentrationen auch nach längerer Zeitdauer nicht gefördert. Die Salzkulturen waren mit den Kontrollen entweder gleich oder fielen sogar schwach negativ aus. Nach drei bis vier Tagen standen sie dann zu den Kontrollen wie 1 : 2 oder 1 : 3. Mit andern Tieren der Stammkultur wurden positive LiCl-Versuche erhalten. Unter diesen waren jedoch wieder auch solche, bei denen der positive Ausschlag sehr gering war. Abkömmlinge der Tiere, mit denen die erwähnten Versuche angesetzt worden waren, wurden weiter gezüchtet und es wurden mit ihnen neue Versuche angesetzt. Es ergab sich, daß jede Linie Wochen hindurch immer ganz gleich reagierte. Die differenten Resultate rührten also nicht von irgend welchen Zufälligkeiten her, sondern waren durch verschiedene spezifisch physiologische Eigenschaften der Linien verursacht. Es schien den Tieren negativer Linien die Fähigkeit zu fehlen, unter dem Einfluß quellungssteigender Reagenzien noch mehr Wasser in ihren Zelleib aufzunehmen, d. h. ihre Membran- oder Plasmakolloide waren entweder nicht sehr quellbar oder aber hatten sie schon im normalen physiologischen Zustand das Maximum von Wasseraufnahme erreicht. Da verschiedene Linien auch in der gleichen Heuinfusion verschieden reagierten, war auch bewiesen, daß nicht etwa ausschließlich Verschiedenheiten der Infusion an den differenten Resultaten schuld waren. Das verschiedene Verhalten bestimmter Paramäzienrassen steht fest. Dabei kann ja aber immerhin verschiedene Qualität der Infusionen einen gewissen Einfluß auf den Ausfall der Versuche ausüben. So konnte ich, wie schon erwähnt, oft feststellen, daß die Teilungszahlen stark lithiumpositiver Linien in bakterienarmen Infusionen absolut höher waren als in recht bakterienreichen, und daß diese Linien in Infusionen von neuem Heu (in denen die Kulturen freilich überhaupt nur kümmerlich gediehen) überhaupt keine positiven Versuche lieferten. Ja, in Rübeninfusionen starben sogar diese Tiere im LiCl am dritten Tage ab, während sie in der Kontrolle wenigstens noch einige Zeitlang weiterlebten. Infusionen

herzustellen, in denen auch die negativen Linien willkürlich positiv hätten gemacht werden können, gelang mir trotz aller Bemühungen nicht. Von vornherein aussichtslos konnte man diese Versuche ja nicht ansehen, da ja eine Veränderung des Plasmas durch gewisse von außen einwirkende Stoffe, außerdem aber auch durch verschiedene aufgenommene Nahrung (verschiedene Bakterien) doch wohl möglich ist. Der größte Nachteil der Infusionen ist der, daß man ihre chemische Zusammensetzung nicht genauer kennt und damit eine Inexaktheit in die Versuche tragen muß.

Tiere aus Stammkulturen, die mit Algen und Wasser aus demselben Tümpel wie die Winterkulturen 1917/18 im Juni und Juli angesetzt wurden, lieferten überhaupt keine positiven LiCl-Versuche. Im August setzte ich dann mit einer Linie (Handschuhsheim H.), an der eine physiologische Veränderung beobachtet worden war (siehe später bei Rhodankaliversuchen!) LiCl-Versuche an. Sie fielen alle zum Teil sogar kolossal positiv aus. Diese Linie trat bald darauf in ein Depressionsstadium ein. Ich überführte daher einige tausend Tiere derselben in ein kleines, mit der Präparierlupe durchsuchbares Gefäß mit Algen, in dem trotz Rübenzusatz keine anderen Paramäzien zur Entwickelung gekommen waren. Die Tiere erholten sich und vermehrten sich in wenigen Tagen kolossal, LiCl-Versuche fielen jedoch jetzt mit ihnen alle negativ aus.

Aus Stammkulturen aus dem September lieferten 100 Proz. der Tiere positive Lithiumkulturen. Die bisher aufgeführten Beobachtungen ließen auf eine Saisonvariation der Paramäzien in ihrem physiologischen Verhalten schließen. Weitere Untersuchungen vom Winter 1918/19 lieferten aber keinen Beweis für diese Annahme. Ich erhielt nämlich mit Tieren aus vier verschiedenen Rassen negative oder doch nur schwach positive LiCl-Versuche.

Ich will nun in den Tabellen II, III, IV und V einige Zählungsergebnisse der beschriebenen Versuche anführen.

Die Ausgangstiere zu II, LiCl 1 stammten aus der April-Stammkultur. Ungefähr in diesem Zahlenverhältnis fielen die Versuche mit „schwach-positivem“ Ergebnis aus. Ob das Resultat auf die typische LiCl-Wirkung zurückzuführen ist, ist mir zweifelhaft.

LiCl 2—7 zeigen etwa die Zahlenverhältnisse der negativen LiCl-Versuche, wie sie im Sommer und dann im Winter 1918/19 an vier verschiedenen Rassen, aus denen die Tiere für LiCl 4—7 stammten, erhalten wurden. (Es hätte wohl nicht viel Zweck, wenn ich alle die gezählten Versuche in Tabellen hier veröffentlichen wollte.)

Tabelle II.

Lithiumchlorid.

LiCl 1 Mai 1,0	A	—	—	420	943	—
	a	—	—	360	671	—
LiCl 2 Mai 1,0	A	—	34	—	298	495
	a	—	55	—	602	1210
LiCl 4 Winter 18/19 1,0	A	—	16	—	507	—
	a	—	30	—	620	—
LiCl 5 Winter 18/19 1,0	A	—	16	—	192	—
	a	—	32	—	250	—
LiCl 6 Winter 18/19 1,0	A	—	64	—	1923	—
	a	—	102	—	2338	—
LiCl 7 Winter 18/19	A	—	124	—	1914	—
	a	—	127	—	2035	—

Versuchsergebnisse der Art, wie die der Tabelle II, werden nun unserm Verständnis durch folgende weitere Beobachtungen wesentlich näher gerückt: *Paramäzienmaterial, das mit LiCl negative Resultate liefert, wird in seiner Vermehrung auch durch sämtliche anderen Salze* (zum Teil noch viel stärker) *behindert.* Steigert man die Konzentration des LiCl (oder irgend eines anderen Salzes), so wird die Teilungshemmung noch etwas stärker. Selbst bei einem LiCl-Zusatz von 1,8 ccm auf 19 ccm Infusion wurden aber die Teilungen keineswegs ganz gehemmt (es waren z. B. einmal am zweiten Tag 14 Tiere vorhanden gegen 56 in der Kontrolle). Mit steigender Konzentration ergab sich mit anderen Worten nirgends eine sprunghafte Veränderung der Reaktion der Tiere. Ich vermute, daß Paramäzien von diesem physiologischen Verhalten Zellmembranen besitzen, die für Salze (bei Anwendung unserer üblichen Konzentrationen) überhaupt nicht oder doch sehr wenig durchlässig sind, so daß die Salze in der Hauptsache nur osmotisch wirken, d. h. in unseren schwach hypertonischen Lösungen den Tieren etwas Wasser entziehen und so auch ihre Teilungen erschweren Mit steigender Konzentration

wird auch die Wasserentziehung stärker, aber eine andere Veränderung tritt nicht ein.

Tiere der negativen LiCl-Versuche werden im LiCl nie dicker als die der Kontrolle. Ihr Plasma quillt also im LiCl nicht auf. Ihre Impermeabilität erklärt sich aus der geringen Quellbarkeit ihrer Membranen. Linien, deren LiCl-Versuche schwach positiv bzw. mit der Kontrolle ungefähr gleich ausfallen, könnten wohl für das LiCl auch schwer durchlässige Membranen haben, durch die aber in den schwach hypertonischen Lösungen auch kein Wasser entzogen wird.

Tiere einer Linie, auf deren Teilungen LiCl in 1,0 ccm Konzentration so gut wie keinen Einfluß hatte, wurden auch noch durch einen 1,5 ccm Zusatz in ihrer Vermehrung nicht gehemmt. Ja, zum Teil erhielt ich sogar mit solchem Material bei 1,4 und bei 1,6 ccm Zusatz schwach positive Resultate. Tabelle III enthält die diesbezüglichen Zählungen.

Tabelle III.

LiCl. Hohe Konzentrationen.

LiCl 1		A	—	29	—	1006
	1,4	a	—	32	—	1167
LiCl 2		A	—	32	—	1112
	1,4	a	—	35	—	1095
LiCl 3		A	—	66	—	1277
	1,4	a	—	51	—	1664
LiCl 4		A	—	65	—	1030
	1,6	a	—	29	—	749
LiCl 4		B	—	65	—	1068
	1,4	b	—	31	—	842

In der nächstfolgenden Tabelle IV veröffentliche ich einige Versuche mit der Linie Handschuhsheim H. Sie sind zwar in mancher Beziehung nicht ganz exakt, aber trotzdem sehr lehrreich.

Die Versuche waren mit ziemlich bakterienarmen Kulturmedien angesetzt worden. Am ersten Tag war kein Bakterienunterschied zu bemerken, am zweiten jedoch waren die Bakterien der Kontrollen wider Erwarten schon abgestorben, während in den A-Kulturen noch

Tabelle IV.
LiCl. Handschuhsheim H.

LiCl 1	A	—	73	645	—
	a	—	16	200	—
LiCl 2	A	—	256	2010	—
	a	—	6	33	—
LiCl 3	A	—	52	460	—
	a	—	8	160	—

einige vorhanden waren. Aus diesem Grunde fielen die Zahlen der Kontrollen am zweiten Tag so sehr niedrig aus. Die lange Zeit vorher schon beobachtete Linie hatte aber auch sonst immer recht niedrige durchschnittliche Tageszahlen. Der Unterschied zwischen A- und a-Kulturen ist also durch die Bakterienunterschiede vergrößert (darin liegt die Inexaktheit), im Versuch 2 ist aber die absolute Größe der Individuenzahl vom 2. Tag imposant hoch, trotzdem die Kultur bakterienarm war. Während meiner ganzen Arbeitsperiode habe ich in reiner Infusion in 48 Stunden nie 256 Tiere aus einem einzigen erhalten. Die starke Vermehrung setzte erst am zweiten Tag ein, so daß wohl von den acht Teilungen (von 1—256) fünf auf den zweiten Tag fielen! Am zweiten Tag wurden die Kulturen in ganz neue, etwas anders als die alte aussehende Infusion überführt, in der sich die Bakterien sehr üppig entwickelten. Die Tageszahl der Teilungen ging nun bei 2 A auf 3 herunter, während alle Kontrollen eine rapide Vermehrung durchmachten mit Tageszahlen, wie sie bei dieser Linie schon seit Wochen nicht beobachtet worden waren, und die denen der LiCl-A-Versuche gleich kamen oder sie sogar übertrafen. So liegen im Versuch 3 zwischen 52 und 460 drei bis vier Teilungen, zwischen 8 und 160 dagegen vier bis fünf. In der bakterienreichen Infusion sind also auch hier die A-Tiere gegenüber den unbehandelten Schwestertieren in Nachteil geraten. — Die Linie Handschuhsheim H. machte also seit dem Infusionswechsel einen beträchtlichen Anstieg ihrer Teilungskurve durch. Nach diesem Zeitpunkt mit je zwei Tieren aus LiCl 2 a neuangesetzte LiCl-Kulturen fielen zwar auch positiv aus, die absoluten Zahlen von 2 A′ waren aber nicht mehr so hoch wie die von 2 A. Statt 256 Tieren waren am zweiten Tag im Durchschnitt nur 64 (gegen 30 der Kontrolle).

Die eben beschriebenen Versuche legen einem auch den Gedanken nahe, daß in den Fällen, in denen schon normalerweise die durchschnittlichen Tageszahlen recht hoch sind, eine weitere Steigerung durch künstliche Mittel viel schwerer gelingen dürfte, als bei Zellen, die sich nur träge teilen. —

Die Lithiumchloridversuche mit dem Septembermaterial sollen zugleich mit den Versuchen besprochen werden, die aus diesem Material auch mit anderen Lithiumsalzen ausgeführt wurden. Es kamen noch Lithiumbromid und Lithiumsulfat zur Untersuchung. Lithiumrhodanid, das Salz, das besonderes Interesse beansprucht, da sowohl sein Kation als auch sein Anion extreme Eigenschaften haben, konnte ich mir leider nicht verschaffen. Bezüglich der Lithiumbromidversuche wollen wir uns erinnern, daß Bromide in der Quellungsreihe vor den Chloriden stehen, so daß wir also der Theorie nach durch Lithiumbromid noch eine stärkere Teilungsförderung zu erwarten hätten, wenn es nicht auch Nebenwirkungen entfalten könnte. Dies ist nun aber insoweit der Fall, als es auf die Paramäzienzelle zum Teil etwas schädigend wirkt. Dies äußerte sich in dem Auftreten ganz anormaler Formen. Der Prozentsatz derselben war bei einer Rasse sehr hoch, so daß dann auch die LiBr-Kultur nicht nur hinter der LiCl-, sondern auch hinter der Kontrollkultur zurückblieb. (Ich lasse diese Versuche in der Tabelle weg.) Bei anderen Rassen traten nur hier und da einzelne Krüppel in den LiBr-Kulturen auf. Diese Kulturen wurden stark positiv. Eine kleine Schädigung dürften die Tiere, auch wenn sie normal aussahen, doch erfahren haben, denn sie blieben hinter den LiCl-Versuchen noch etwas zurück. Schließlich wurden auch Paramäzien gefunden, die in ihren Teilungen durch LiBr noch stärker gefördert wurden als durch LiCl, trotzdem auch schon dieses Salz bei ihnen mächtig fördernd wirkte (Versuch 1). Ich lasse nun zunächst die Lithiumbromid-Tabelle mit den LiCl-Kontrollen hier folgen.

In den Versuchen 1—3 war absolut kein Bakterienunterschied zu bemerken. Dagegen habe ich mir bei allen mit *) bezeichneten Kontrollkulturen der Versuche 4 und 5 ausdrücklich aufgezeichnet, daß sie viel mehr Bakterien enthielten als die entsprechenden Salzkulturen. Die Bakterien bildeten in ihnen dicke, mehr oder weniger zusammenhängende gallertige Wolken, in die sich die Tiere einbuddelten. Trotz diesem Bakterienreichtum in den Kontrollen waren die Li-Tiere dicker, ja die mit **) bezeichneten Kulturen wiesen sogar ganz besonders stattliche, dicke Tiere auf. Im Versuch 1 war der Größenunterschied weniger deutlich, die LiBr-Tiere schienen bei der letzten Zählung

Tabelle V.

Lithiumbromid und Lithiumchlorid.

Li Br 1	1,0	A	—	48	—	962
		a	—	15	—	95
Li Cl 1	1,0	B	—	52	—	734
		b	—	10	—	50
Li Br 2	1,0	A	—	104	—	1923
		a	—	130	—	1423
Li Cl 2	1,0	B	—	234	—	ca. 4000—5000
		b	—	85	—	750
Li Br 3	1,0	A	—	127	1180	ca. 3-mal mehr als in a
		a	—	122	728	—
Li Br 4	1,0	A	—	65	—	1232**)
		a	—	56*)	—	428*)
Li Cl 4	1,0	B	—	95**)	—	2647**)
		b	—	48*)	—	381*)
Li Br 5	1,0	A	—	114	916**)	—
		a	—	40*)	198*)	—
Li Br 5	1,0	B	—	124	990**)	—
		b	—	62*)	390*)	—
Li Cl 5	1,0	C	—	132	1140**)	—
		c	—	52*)	268*)	—

etwas dicker zu sein, um so größer war aber hier der Zahlenunterschied. Im Versuche 2 und 3 stellten sich früher oder später auch deutliche Dickenunterschiede ein, die Li-Tiere wurden dicker. Im Versuch 2 B waren nach dem vierten Tag nach der rapiden Vermehrung überhaupt keine Bakterien mehr in der Infusion. — Mit dem Septembermaterial wurden noch einige Li Br-Versuche ausgeführt, die so wie die Li Cl-Kontrollen positiv ausfielen. Die Tiere der Rasse, die unter der Einwirkung des Li Br viele morphologische Mißbildungen aufwies,

waren sehr klein. Beim Zählen konnten sie unter der Präparierlupe leicht übersehen werden. Im LiCl quollen sie zu ganz beträchtlicher Größe heran. Am fünften Tag stand der LiCl-Versuch A:a = 5:1.

Mit Material, das negative LiCl-Versuche liefert, fallen auch die LiBr-Versuche negativ aus.

Ich wende mich nun zu den Lithiumsulfatversuchen.

Tabelle VI.

Lithiumsulfat und Lithiumchlorid.

Li_2SO_4 1		A	—	10	26	—
	1,0	a	—	32	256	—
Li_2SO_4 1		B	—	16	46	—
	1,0	b	—	30	233	—
LiCl 1		C	—	66	484	—
	1,0	c	—	30	155	—
Li_2SO_4 2		A	—	31	—	197
	1,2	a	—	42	—	286
Li_2SO_4 2		B	—	22	—	190
	1,2	b	—	27	—	180
LiCl 2		C	—	63	—	ca. 1400
	1,2	c	—	20	—	125
Li_2SO_4 3		A	—	101	—	1795
	1,2	a	—	67	—	577
Li_2SO_4 3		B	—	113	—	1600
	1,2	b	—	64	—	320
LiCl 3		C	—	130	—	2205
	1,2	c	—	62	—	344

Lithiumsulfat ist nun ein Salz, dessen Anion die Quellung im entgegengesetzten Sinne beeinflußt wie das Kation, wenigstens gilt dies für nicht allzu niedrige Konzentrationen. In ganz niederen Konzentrationen können Sulfate die Quellung (gegenüber reinem Wasser)

noch etwas fördern. Bei etwas höherer Konzentration bewirken sie aber dann schon eine Entquellung. Die Konzentration, bei der dieser Umschlag in der Quellungsbeeinflussung erfolgt, liegt bei Li_2SO_4 höher als bei anderen Sulfaten.

Bei meinen Versuchen war nun die Frage die: Wird bei den angewandten Konzentrationen das quellungsfördernde $Li^{\cdot}$-Ion oder das entquellend wirkende SO_4''-Ion den stärkeren Einfluß auf den Zustand der Zellkolloide und damit auf die Zellteilung ausüben? Es ergab sich, daß dies bei verschiedenem Material etwas verschieden ausfällt, je nachdem (nach LiCl-Versuchen zu schließen) das Li-Ion eine stärkere oder schwächere Quellungsförderung auszuüben imstande ist. Die Versuche Li_2SO_4 1, 2 und 3 waren mit Tieren angesetzt, die eine stufenweise zunehmende Empfindlichkeit gegen das Lithiumion zeigten. Die des ersten Versuches zeigten im LiCl kaum einen Volumunterschied gegenüber der Kontrolle und auch die Zahlenunterschiede zwischen LiCl C und c sind noch nicht sehr groß. Wesentlich größer waren sie in LiCl 2, und schließlich LiCl 3C zeigte sowohl eine starke Vermehrung als auch eine bedeutende Dickenzunahme. Diesem Verhalten der Chloridkulturen läuft nun das der Sulfatkulturen vollständig parallel: In Li_2SO_4 überwog absolut die Wirkung des Anions, sie waren stark negativ. In Li_2SO_4 2 hielten sich Anion und Kation so ziemlich das Gleichgewicht, die Sulfatkulturen fielen mit der Kontrolle ungefähr gleich aus, und schließlich Li_2SO_4 3 war positiv und die Salztiere zeigten auch eine ziemliche Aufquellung. Sämtliche Sulfatversuche waren ärmer an Tieren als die mit Schwestertieren angesetzten Chloridversuche. Auch bezüglich der Beeinflussung der Zellteilung gilt also das Verhältnis $Cl > SO_4$, so wie bei der Einwirkung auf die Quellung.

Von den Li_2SO_4-Infusionen wurde schon früher berichtet, daß sich in ihnen die Bakterien sehr langsam zu Boden setzen, so daß es viel leichter als bei LiCl-Versuchen zu Bakterienunterschieden kommen kann. So waren am vierten Tag die Kontrollen Li_2SO_4 2a und b schon so gut wie bakterienleer, während in den Sulfatkulturen noch ziemlich viele Bakterien fluktuierten. (Trotzdem waren die Versuche nicht positiv!) Bakterienunterschiede der genannten Art dürften im dritten Versuch einen gewissen Einfluß auf das Resultat ausgeübt haben. Es muß zunächst erwähnt werden, daß bei der ersten Zählung der 3er Kulturen in Li_2SO_4 A und B gerade sehr viele Teilungsstadien waren, die (wie immer) doppelt gezählt wurden. Am dritten Tage waren in den Sulfatkulturen zwar auch wesentlich mehr Tiere

als in den Kontrollen, aber wesentlich weniger als in LiCl C. Da nun aber die Bakterien sich in den Kontrollen und im LiCl absetzten, während sie in den Sulfatkulturen noch alle lebten, könnten ja in diesem Fall die gut vermehrungsfähigen Tiere dieser Kulturen hierdurch in ihrer Vermehrung noch etwas in Vorteil geraten sein.

Ich verlasse hiermit die Lithiumsalze und wende mich zur Beschreibung der Wirkung der Kalisalze auf die Zellteilung.

Versuche mit Kalisalzen.

Was die physikalischen Eigenschaften des Kaliumions betrifft, so steht es (wenigstens bei der Einwirkung auf bestimmte Kolloide) in der Fähigkeit, die Quellung zu fördern, dem Lithiumion nahe. In der Einwirkung auf die Fällung von Kolloiden, die bei vielen physiologischen Prozessen ebenfalls eine große Rolle spielt, verhalten sich die Kalisalze den Lithiumsalzen direkt entgegengesetzt. Sie haben ein viel geringeres Fällungsvermögen. Ich habe früher schon (siehe auch bes. 1918, 2) aus der geringen Fällungskraft eines Salzes seine Fähigkeit in die Zellen leichter als andere Salze einzudringen, abgeleitet.

Nur ein Kalisalz besitzt neben einem großen Quellungsvermögen bei Gegenwart von Kalziumsalzen auch eine ziemlich beträchtliche Fällungskraft; das ist das Rhodankalium. Es besitzt also beide Haupteigenschaften der Lithiumsalze (bzw. des LiCl). Als ich an das Studium der Beeinflussung der Teilung durch Kalisalze ging, waren mir daher die Fragen von besonderem Interesse, ob nun Rhodankalium einen ähnlichen Einfluß ausübt wie LiCl und ob es sich anders verhält als andere Kalisalze, ob mit anderen Worten — denn darauf lief ja das hinaus — auch das Fällungsvermögen der Salze bei der Beeinflussung der Zellteilung von Bedeutung ist.

In der hier folgenden Tabelle VII teile ich zunächst die Versuchsresultate von Rhodankaliumkulturen mit, die im Winter 1917/18 mit dem gleichen Paramäzienmaterial wie die damaligen LiCl-Versuche angesetzt wurden.

Aus den Versuchen der Tabelle VII geht mit überzeugender Deutlichkeit hervor, daß Rhodankalium die Zellteilungen in demselben hohen Grade fördern kann, wie Lithiumchlorid. Auch die Einzelheiten der Versuche sind mit denen der LiCl-Versuche gleich. Auch in den KSCN-Versuchen finden wir (wie in Versuch 1, 2, 4C, 6, 8, 11) häufig eine anfängliche Verminderung der Teilungszahlen, die aber dann später in eine mächtige Förderung der Teilungen umschlägt.

Tabelle VII.
Rhodankalium.

KSCN 1	0,8	A a	1 2	8 16	39 26	130 26	— —
KSCN 2	0,8	A a	2 4	30 32	152 32	610 76	— —
KSCN 3	0,8	A a	4 3	67 30	373 41	958 89	— —
KSCN 4	1,0	A a	5 4	58 28	337 69	1930 316	— —
KSCN 4	0,8	B b	5 4	63 33	307 58	1830 399	— —
KSCN 4	0,66	C c	4 4	33 60	108 86	1118 545	— —
KSCN 5	0,66	A a	4 6	20 47	56 61	520 229	1120 378
KSCN 5	0,5	B b	8 4	68 22	83 25	512 70	1012 128
KSCN 5	0,4	C c	8 4	32 28	44 33	265 214	298 387
KSCN 6	0,8	A a	— —	65 64	965 222	— —	— —
KSCN 6	0,66	B b	— —	46 64	407 125	600 198	— —
KSCN 7	1,1	A a	5 6	34 8	412 37	— —	— —
KSCN 8	1,0	A a	4 6	54 81	342 125	1315 133	— —
KSCN 8	1,0	B b	4 7	50 74	408 115	1180 115	— —
KSCN 9	1,0	A a	4 6	50 47	558 57	— —	— —
KSCN 10	1,0	A a	8 4	70 62	800 83	— —	— —
KSCN 11	1,0	A a	4 7	30 86	560 233	1600 423	— —

Auch bei den Rhodankalitieren zeigte sich nach einigen Tagen eine beträchtliche Volumzunahme, ein Dickenunterschied gegenüber den Kontrolltieren. Selbst nach rapiden Vermehrungen blieben die Rhodankalitiere dicker als die unbehandelten. Dabei wurden nur in den Ausnahmefällen in ihnen mehr Nahrungsvakuolen gefunden, wo sich — das ist bei KSCN gerade so wie bei LiCl möglich — trotz entsprechender Vorbeugungsmaßnahmen wider Erwarten die Bakterien in den Kontrollen rascher abgesetzt hatten als im KSCN. Den gleichen physikalischen Eigenschaften der beiden Salze, vor allem dem beiden eigenen Vermögen die Quellung stark zu fördern, entspricht also eine gleichstarke und gleichsinnige Einwirkung auf die Zellteilungen, eine starke Förderung derselben.

Auch mit den übrigen Rassen ließ sich immer wieder die Erfahrung machen, daß die Einwirkung von KSCN und LiCl gleich sind. Mit LiCl-negative Linien fielen auch mit KSCN-negativ aus. LiCl-positive waren auch KSCN-positiv. So lieferte das Frühjahrsmaterial (April — Mai) nur etwa 40 Proz. positive Versuche, das Sommermaterial (Juni — Juli) überhaupt keine. Die oben schon erwähnte Linie Handschuhsheim H hatte Wochen hindurch immer negative KSCN-Versuche ergeben, sie war in dieser Periode in unserem Institute täglich gewechselt worden und stand damals stets in der Wärme. Später wurde sie dann bei Zimmertemperatur gehalten und nur hier und da einmal in neue Infusion überführt. Ihre tägliche Teilungszahl war jetzt in guten neuen Infusionen geringer als früher. Es stellte sich nun zu meiner Ueberraschung heraus, daß die Tiere jetzt durch Rhodankalium in ihrer Vermehrung sehr beträchtlich gefördert wurden. Daraufhin angesetzte LiCl-Versuche ergaben das schon oben mitgeteilte ganz positive Resultat. Mit dem Herbstmaterial wurden keine KSCN-Versuche angesetzt. Die vier LiCl-negativen Rassen vom Winter 1918/19 wurden auch durch Rhodankalium in ihren Teilungen gehemmt.

In Tabelle VIII veröffentliche ich zunächst die Versuche mit der Linie Handschuhsheim H.

Mit Tieren, welche durch Rhodankalium in ihrer Teilung nicht gefördert, sondern so, wie durch jeden andern Salzzusatz zur Infusion sogar etwas gehemmt wurden, führte ich nun im Sommer 1918 noch verschiedene Versuche aus, die den Zweck hatten, die Ursachen dieser Hemmung noch etwas genauer zu ergründen. Tabelle IX zeigt zunächst, wie die Zahlenverhältnisse der negativen Versuche ungefähr ausfielen.

Tabelle VIII.
Rhodankalium. Linie: Handschuhsheim H.

KSCN 1	1,0	A a	— —	236 25	2620 171	— —
KSCN 2	1,0	A a	— —	140 22	— —	2650 110
KSCN 3	1,0	A a	— —	54 7	446 19	— —
KSCN 3	1,0	B b	— —	22 16	202 22	— —
KSCN 4	1,0	A a	— —	55 25	416 144	— —
KSCN 5	1,0	A a	— —	66 15	820 45	— —
KSCN 6	1,0	A a	— —	51 32	392 108	— —
KSCN 6	1,0	B b	— —	125 49	1000 112	— —
KSCN 7		A a	— —	50 46	— —	820 66

Tabelle IX.
Rhodankalium.

KSCN 1	1,0	A a	— —	46 106	100 212	— —
KSCN 2	1,0	A a	— —	41 130	96 300	— —
KSCN 3	1,0	A a	— —	14 29	— —	814 1121

Von der Voraussetzung ausgehend, daß die typische KSCN-Wirkung bei diesen Versuchen auch nur deswegen nicht zustande kommen könnte, weil die Zellmembranen die Salzionen nicht durchlassen, daß das Innenplasma eventuell ganz gut quellbare Kolloide enthalten könnte, zu denen aber wegen der Impermeabilität der Membranen das quellungsfördernde Salz gar nicht hinzutreten kann, versuchte ich zunächst durch Einwirkung auf die Zellmembranen diese Verhältnisse zu ändern. Es lag da am nächsten, daß so, wie bei andern Zellen auch bei den Infusorien gewisse Lipoide die Hauptbausteine der Membran sind. Ich setzte daher zu den Heuinfusionen eine die Lipoide gut lösende (andererseits auch quellungsfördernde) Substanz zu, nämlich Aethyläther, in der Annahme, daß durch den Aether die in diesem Falle schlecht quellbaren Membranlipoide teilweise herausgelöst und dadurch den KSCN-Molekülen der Durchtritt in die Zelle erleichtert werden könnte. — In zwei Fällen erhielt ich durch Zusatz von 0,2 ccm vierprozentigem Aether zu 10 ccm Infusion eine sehr beträchtliche Steigerung der Zellteilungen gegenüber den Tieren in der reinen Infusion. Das sprach dafür, daß entweder durch eine Beeinflussung der Zellmembranen in der oben erörterten Art oder durch eine Quellungssteigerung auch die Wasseraufnahme durch den Aether erleichtert werden kann. In den meisten Fällen bewirkte aber der Aether eine Teilungsverminderung, offenbar durch irgend eine Schädigung der Zellen, die oft zum Tode der Tiere führte. Wurde zu Aetherkulturen dieser Tiere noch KSCN zugesetzt, so war die Hemmung noch stärker. Ich ließ daher die Tiere nun nur 24 Stunden in der Aetherinfusion und setzte dann Rhodankaliversuche mit ihnen an. Der Erfolg war nicht bei allen Linien gleich, immerhin wurden wenigstens einige Linien, von denen nie vorher positive KSCN-Versuche erhalten wurden, nach der Aethervorbehandlung in ihrer Vermehrung durch Rhodankali gefördert. Meist waren am ersten und zweiten Tag noch wesentlich weniger KSCN-Tiere zu finden als Kontrolltiere. Dann aber verschob sich das Zahlenverhältnis immer mehr zugunsten der ersten, so daß (wenn die Kulturen nur lange genug weitergezüchtet wurden), die A-Kulturen mehr oder weniger stark positiv wurden. In Tabelle X sind zwei Beispiele hierfür angeführt.

Tabelle X.

Rhodankalium (mit Aether vorbehandelt).

KSCN 1	1,0	A	—	8	—	478
		a	—	28	—	422
KSCN 2	1,0	A	1	82	—	1478
		a	8	118	—	1167
KSCN 3 rein	1,1	A	—	16	—	62
		a	—	52	—	227
KSCN + 1 Tr. Aether auf 7,5 ccm Inf.		B	—	252	—	1423

In Versuch 3 blieben die Tiere von B 48 Stunden lang in einer Rhodankalikultur mit Aetherzusatz von einem Tropfen auf 7,5 ccm Infusion und wurden dann erst in reine Rhodankaliinfusion überführt. Eine Kontrolle von Infusion mit Aetherzusatz allein (b) ging am ersten Tag schon ganz ein. Es ist somit nicht anzunehmen, daß die starke Vermehrung in Rhodankaliäther (B) dem Aether allein und nicht dem Rhodankalium zuzuschreiben ist. Trotz der schädigenden Aetherwirkung blieben die Aether-Rhodankalitiere am Leben.

Bei Linien, deren Teilungen durch Rhodankali gefördert wurden, hatte eine Vorbehandlung mit Aether keinen Einfluß auf das Resultat der Rhodankaliversuche.

Tabelle XI.

Rhodankalium + Chlorkalzium.

KSCN 1 rein 1,0 . .	A	4	40	1000	—	—	—
KSCN 1,0 + $CaCl_2$ 0,2	B	2	49	908	—	—	—
$CaCl_2$ 0,2	C	4	51	57	—	—	—
Kontrolle rein . . .	a	2	31	169	—	—	—
KSCN 2 rein . . .	A	—	—	140	972	—	—
KSCN 1,0 + $CaCl_2$ 0,3	B	—	—	80	570	—	—
$CaCl_2$ 0,3	C	—	—	22	176	—	—
Kontrolle rein . . .	a	—	—	26	387	—	—
KSCN 3 rein . . .	A	—	—	27	—	—	224
KSCN 1,0 + $CaCl_2$ 0,3	B	—	—	37	—	—	621
$CaCl_2$ 0,3	C	—	—	12	—	—	137
Kontrolle rein . . .	a	—	—	60	—	—	710
KSCN 4 rein . . .	A	—	—	19	—	—	79
KSCN 1,0 + $CaCl_2$ 0,3	B	—	—	17	—	—	252
$CaCl_2$ 0,3	C	—	—	28	—	—	31
Kontrolle rein . . .	a	—	—	30	—	—	250

Bei den KSCN-Versuchen mußte es für möglich gehalten werden, daß ein kleiner Extrazusatz von $CaCl_2$ die Versuche beeinflußt, da ja eine physikalische Eigenschaft der Rhodanide (ihr Fällungsvermögen) durch $CaCl_2$ weitgehend beeinflußt wird. Allerdings mußte ja von vorneherein bedacht werden, daß auch die stark entquellende Wirkung von $CaCl_2$ selbst schon in kleinen Extradosen ins Gewicht fallen konnte. Es ergab sich aus den Versuchen folgendes: Erhöht Rhodankalium die Teilungszahlen stark, so bewirkt eine Extradosis von $CaCl_2$ immer eine Verminderung derselben. Fallen die Rhodankaliversuche jedoch negativ

aus, so bewirkt ein $CaCl_2$-Sonderzusatz eine schwache Erhöhung der Zahlen. Die negativen KSCN-Resultate haben wir auf Wasserentziehung durch osmotische Wirkung zurückgeführt. Man könnte annehmen, daß bei reiner Oberflächenwirkung des $CaCl_2$, die nur eine Verminderung der Permeabilität der Membranen bewirken könnte, nun auch die osmotische Wasserentziehung unmöglich wird.

Durch geringe Steigerung des Hydroxylionengehaltes (Zusatz von einem Tropfen 0,075-n NaOH auf 20 ccm Infusion wurde zwar in reiner, nicht aber in der KSCN haltigen Infusion eine Steigerung der Teilungszahlen bewirkt. — Aenderung der Konzentration der Infusion, sowie Aenderung der Temperatur bewirkten keine besondere Veränderung der KSCN-Wirkung.

Als ich an das Studium der Wirkung anderer Kalisalze schritt, geschah es nicht ohne große Neugierde, wie nun die Frage durch die Tatsachen entschieden würde, ob bei den Kalisalzen mit schwächer quellendem Anion, auch noch so eine starke Teilungsförderung gelingt, wie mit dem Rhodanid, und ob bei diesen Salzen mit ihrem geringen Fällungsvermögen, von denen aus verschiedenen Gebieten der Salzphysiologie der Zellen und Gewebe bekannt ist, daß sie leichter eindringen als andere Salze, sich dies nicht auch in irgend einer Weise bemerkbar machen würde. Der Leser möge sich hierbei erinnern, daß es A. Peters (loc. cit.) gelang, die Teilung von Stentoren durch Kaliumchlorid zu fördern, und daß auch Balbiani (loc. cit.) Beobachtungen machte, die deutlich genug für eine durchlässigkeitsfördernde, quellende Wirkung auch anderer Kalisalze sprachen. Andererseits fanden dann mehrere andere Autoren, daß sich Infusorien in Lösungen von Salzen, die für die am leichtesten eindringenden gelten, so auch in Kalisalzen schlechter kultivieren lassen und eine höhere Sterblichkeitsziffer aufweisen als in schwer eindringenden Salzlösungen. Es könnte eben die Anreicherung von Salzen in der Zelle über ein gewisses Maß hinaus schädigend wirken.

Die Versuche lehrten nun, daß andere Kalisalze (untersucht wurden Kaliumnitrat, Kaliumchlorid und Kaliumsulfat) in unsern üblichen schwachen Konzentrationen in keinem Falle eine solche Steigerung der Wasserabsorption hervorrufen können, die sich wie beim Rhodanid in einer deutlichen Volumzunahme äußert. Die Kalisalztiere sind von den Kontrolltieren nicht unterschieden. Andererseits ist aber auch nicht die geringste Spur irgend einer Wasserentziehung und Volumverminderung zu bemerken. Trotzdem fiel die große Mehrzahl der Kaliversuche negativ aus. Ja, bei einigen Linien (die durch LiCl in ihren Teilungen begünstigt wurden), war diese Hemmung sogar recht bedeutend. Bei andern war sie weniger groß und schließlich kamen

auch einige wenige schwach positive Versuche vor, doch war bei ihnen der positive Ausschlag nie groß.

Die Erklärung für die negativen Versuche können wir nach Obigem nicht recht in den von den Salzen beeinflußbaren Wasserabsorptionsverhältnissen suchen; am nächsten liegt daher der Gedanke, daß unter der Wirkung des rasch eindringenden Kaliumnitrates oder des Chlorides die Anreicherung von Salzen im Zellinnern, eine Grenze erreicht hat, die auch für die Zellteilung nachteilig ist. Ob in den Fällen, in denen nun dieser Faktor weniger stark teilungshemmend wirkt, und die Versuche sogar positiv ausfallen, dies durch eine geringe Förderung der Quellung durch die Kalisalze hervorgerufen wird, oder ob nur zufällige Verschiedenheiten der Ausgangstiere das Resultat bedingen, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden.

Tabelle XII.

Kaliumchlorid.

KCl 1		A	—	16	56	185	—	—
	1,2	a	—	20	120	360	—	—
KCl 1		B	—	16	40	102	—	—
	0,8	b	—	16	114	335	—	—
KCl 2		A	—	16	53	160	—	—
	1,0	a	—	29	110	265	—	—
KCl 3		A	8	12	40	122	—	—
	1,2	a	6	40	200	522	—	—
KCl 4		A	8	14	90	—	—	—
	1,2	a	8	51	375	—	—	—
KCl 5		A	10	21	45	—	—	—
	1,0	a	14	44	117	—	—	—
KCl 6		A	14	25	37	40	—	—
	1,0	a	6	21	125	150	—	—
KCl 7		A	8	22	75	—	—	—
	1,0	a	14	57	330	—	—	—
KCl 8		A	8	75	268	—	—	—
	1,0	a	4	62	62	—	—	—
KCl 9		A	4	40	73	137	—	255
	1,0	a	6	48	79	105	—	125

Bei Rhodankalium und den Lithiumsalzen läßt alles auf ein schweres Eindringen in die Zellen schließen. Die Salze bleiben mehr oder weniger auf die äußeren Zellschichten lokalisiert (Spek, 2). Daß aber in sehr bakterienreichen Kulturen dieser Salze die Teilungsförderung verhältnismäßig geringer ist, könnte daran liegen, daß mit den vielen Bakterien hier nun doch auch zu viel Salz in das Zellinnere gelangt ist.

Alle Versuche der Tabelle XII wurden im Winter 1917/18 an dem Material ausgeführt, mit welchem die durchwegs stark positiven Rhodankaliversuche der Tabelle VII erhalten worden waren. Die angeführten Zahlenverhältnisse der negativen Versuche blieben auch am fünften und sechsten Tag unverändert. Die Variierung der Konzentration von 0,8 bis 1,2 ccm hatte keinen eindeutigen Einfluß auf die Endresultate. — Versuche 8 und 9 wurden mit Tieren der gleichen Linie ausgeführt.

Weitere KCl-Versuche wurden immer mit NaCl-Kontrollen ausgeführt; es soll daher schon hier einiges über die NaCl-Kulturen vorausgeschickt werden. Die Hauptreihen der NaCl-Versuche werden dann im nächsten Kapitel mitgeteilt werden. Der Einfluß des Kochsalzes auf die Zellteilung ist ein recht geringer, ganz entsprechend den verhältnismäßig geringen Zustandsänderungen, welche NaCl an Kolloiden hervorzurufen imstande ist. Die Versuche bewegten sich in den ersten Tagen in Zahlen, die den Kontrollzahlen sehr nahe lagen. Schließlich kam aber früher oder später doch in den meisten Fällen eine schwache Hemmung der Teilungen zustande, die aber im Durchschnitt entschieden geringer war als bei den KCl-Versuchen.

Bei einem direkten Vergleich der NaCl- und KCl-Wirkung an Schwestertieren erhält man mit verschiedenen Linien etwas verschiedene Resultate. Daß diese nicht ganz eindeutig sind, hat wohl auch darin seine Ursache, daß eben bei diesen Salzen verschiedene Faktoren (eine Ueberladung der Zellen mit Salzen und eine geringe Einwirkung auf die Quellung) auf die Zahl der Teilungen einwirken, wobei bald der eine, bald der andere stärker ins Gewicht fällt. Eine beträchtliche Entfernung der Zahlen vom Mittelwert bringt aber keiner zustande. Schwach positive Resultate wurden gelegentlich auch mit Kochsalz erhalten.

Die Linien, mit denen Versuch 1 und 2 angesetzt wurden, waren gegen Kalium sehr empfindlich, d. h. sie wurden durch die geringen Zusätze von KCl stets ganz mächtig gehemmt, während NaCl in Versuch 1 zwischen den beiden Kontrollen steht und in 2 nur schwach negativ ist. In Versuch 3 und 4 sind KCl- und NaCl-Versuche beide

negativ oder beide positiv. In Versuch 4 konnten die Zählungen am vierten Tag leider nicht alle beendet werden, so daß kein direkter Vergleich möglich ist. Als Hauptresultat eines Vergleiches zwischen den Chloriden des Kaliums und Natriums ergibt sich also, daß bei Schwestertierversuchen sich in ganz ausgesprochenem Grade das Verhältnis K<Na ergeben kann und auch ein Mittel aus dem Gros der Versuche (siehe auch Tabelle XIV NaCl im nächsten Kapitel) dieses Verhältnis K<Na ergibt. — Ist die Hemmung der Teilungen durch Kalisalze wirklich durch ihr leichteres Eindringen in die Zellen bedingt, so müssen wir erwarten, daß Versuche mit dem Ergebnis K<Na bei Salzen mit stärker fällendem Anion, etwa Sulfaten oder Rhodaniden seltener sind. Die geplanten Vergleichsversuche mit KSCN und NaSCN mußte ich leider aufgeben, da ich damals als sie ausgeführt werden sollten (in der letzten Periode meiner Arbeit) keine KSCN-positiven Linien fand. Sulfatversuche sollen weiter unten publiziert werden.

Tabelle XIII.

Kaliumchlorid und Natriumchlorid.

KCl 1	1,0	A	—	28	153	—	—	—
		a	—	120	887	—	—	—
NaCl 1	1,0	B	—	92	1141	—	—	—
		b	—	128	1377	—	—	—
KCl 2	1,0	A	—	31	31	74	381	—
		a	—	48	98	249	1103	—
NaCl 2	1,0	B	—	37	143	215	775	—
		b	—	—	—	—	—	—
NaCl 3	1,0	A	—	44	—	327	—	814
		a	—	59	—	589	—	1952
KCl 3	1,0	B	—	61	—	437	—	1469
		b	—	58	—	410	—	2157
KCl 4	1,0	A	—	64	—	983	—	—
		a	—	44	—	495	—	—
KCl 4	1,0	B	—	42	—	870	—	—
		b	—	44	—	360	—	—
NaCl 4	1,0	C	—	90	—	—	1948	—
		c	—	42	—	—	1097	—

Mit KNO_3 wurden nur einige Vergleichsversuche mit KCl gemacht. Die Ergebnisse waren stets sehr ähnlich. Versuche von längerer Zeitdauer sollen bei späterer Gelegenheit einmal mit KNO_3 ausgeführt werden.

Ich kann die KCl-Versuche nicht verlassen, ohne vorher auch auf Experimente J. Loeb's[1]) über die Beeinflussung der Regeneration von Tubularien durch Extrazusätze von Salzen zu normalem Seewasser hingewiesen zu haben. Die Ergebnisse derselben stimmen mit meinen Paramäzienversuchen sehr gut überein. Auch Loeb fand nämlich das KCl viel leichter als NaCl (d. h. schon bei viel geringeren Zusätzen) eine Hemmung der Regeneration bewirken kann als NaCl und daß diese Hemmung ganz beträchtlich sein kann. Das Gleiche gilt für KNO_3 und $NaNO_3$. Ein Salz, von dem wir schließlich nach seinen physikalischen Eigenschaften (gutes Quellungsvermögen, sehr geringe fällende Wirkung!) ein noch leichteres Eindringen in die Zellen erwarten müssen als von Kaliumchlorid, ich meine nämlich Ammoniumchlorid, hemmt die Regeneration der Tubularien noch stärker als KCl.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam übrigens auch C. Herbst, als er den Einfluß der einzelnen Salze des Seewassers auf die Entwicklung der Seeigellarven studierte. Er fand[2]), daß die Optimalkonzentration des Kaliums sehr tief liegt, und daß eine Erhöhung des Kaligehaltes über diese hinaus nachteilig wirkt. Noch tiefer liegt die Optimalkonzentration des Rubidiums, und am allertiefsten von den Salzen der Kalium-Triade beim Caesium. Zu hohe Konzentrationen von Rb- oder Cs-Salzen wirken auch auf die Entwickelung des Urdarmes hemmend, das könnte ja nun wenigstens teilweise auch auf einer Hemmung von Zellteilungen beruhen.

Daß nach Befunden C. Herbst's[3]) gewisse kleine Mengen von Kalisalzen gerade auch für den Ablauf der Furchung, also für Zellteilungen unentbehrlich sind, steht mit dem oben Gesagten durchaus nicht im Widerspruch, denn die tatsächlichen Beobachtungen über einen schädigenden Einfluß von Kalisalzen auf die Zellteilung und die Erklärung, die wir für sie gaben, gelten nur für höhere Konzentrationen; erst wenn die absolute Menge der leicht eindringenden Salze nicht mehr sehr klein ist, kann sie die Zellkolloide nachteilig verändern.

---

[1]) J. Loeb, The decennial publications of Univers. Chicago II. Ser. **15**, 245 (1905).

[2]) C. Herbst, Habilitationsschrift (Leipzig 1901), 37 ff.

[3]) C. Herbst, Arch. f. Entwicklungsmech. **5**, 723 ff. (1897).

Hübsche Beweise für die Richtigkeit der oben aufgestellten Hypothese finden wir auch in einer Arbeit von A. Breckner[1]). Breckner gibt darin an, bis zu welchem Stadium sich auf künstlichem Wege zum Ausschlüpfen gebrachte Nauplien von Artemia salina in verschiedenen einfachen oder zusammengesetzten Salzlösungen weiterentwickeln. Zunächst machte auch er die Erfahrung, daß reine Salzlösungen viel ungünstiger wirken als kombinierte; sie wirken „giftig“, zytolysierend, wobei eine Teilerscheinung der Zytolyse eben auch eine zu reichliche Anhäufung des betr. Salzes in den Zellen ist. In reiner KCl-Lösung blieben überhaupt keine Tiere am Leben, in reinen NaCl-Lösungen konnten sie sich acht Tage lang erhalten. Auch in Lösungen mehrerer Salze vertragen dann die Tiere einen viel höheren Zusatz von Na als von K; ist der Kaliumgehalt schon etwas zu hoch, so geht die Entwickelung nicht über das Naupliusstadium hinüber. Der Gehalt der Lösungen an Kaliumionen kann viel höher sein, wenn das Kalium als Sulfat, als wenn es als Chlorid der Salzmischung zugesetzt wird. Die fällenden und entquellenden SO_4-Ionen vermindern die Permeabilität und lassen demnach auch weniger K-Ionen in die Zellen hineingelangen. Auch bei den Natrium- und Magnesiumsalzen fand Breckner, daß reine Lösungen des Chlorides schlechter vertragen werden als die des Sulfates. In der reinen Chloridlösung sterben die Tiere früher ab als in der Sulfatlösung. — Wird zu einer Lösung von zwei Salzen noch ein drittes (an sich schon fällendes) Salz zugesetzt, so wird auch die Fällungskraft der übrigen Salze erhöht, in physiologischer Hinsicht würde das eine beträchtliche Verminderung der Permeabilität mit sich bringen (diese Fragen habe ich schon in meiner Gastrulaarbeit wiederholt erörtert), besonders würde dies für einen Extrazusatz von einem zwei- oder mehrwertigem Salz gelten. Beruht nun eine etwaige schädigende, entwickelunghemmende Wirkung einer etwas zu hohen Kaliumsalzkonzentration eines Na- und K-Salzgemisches auf einem zu reichlichen Eindringen des K-Salzes in die Zellen, so muß erwartet werden, daß sie durch einen Extrazusatz eines dritten Salzes aufgehoben oder doch vermindert werden kann. In der Tat fand Breckner, daß ein höherer KCl-Gehalt vertragen wird, wenn außer NaCl und KCl noch $MgCl_2$ zugesetzt wird. Bei einer K-Ionenkonzentration, die im Zweisalzgemisch schon ungünstig wirkte, entwickelten sich die Tiere bis zu ziemlich großen Artemien, wenn etwas $MgCl_2$ zugefügt wurde.

Ich wende mich nun zu den Kaliumsulfatversuchen.

---

[1]) A. Breckner, Verhandl. d. Siebenbürg. Ver. f. Naturw. Hermanstadt 58, 100—152 (1908).

Tabelle XIV. Kaliumsulfat und Kontrollen.

K_2SO_4 1	1,2	A	—	36	110	—	—
		a	—	120	765	—	—
K_2SO_4 2	1,2	A	—	14	36	—	—
		a	—	120	720	—	—
K_2SO_4 3	1,2	A	—	24	115	—	—
		a	—	60	390	—	—
K_2SO_4 4	0,7	A	—	30	152	—	415
		a	—	30	152	—	2690
K_2SO_4 5	1,0	A	—	2	16	—	—
		a	—	16	1017	—	—
KCl 5	1,0	B	—	13	598	—	—
		b	—	16	1024	—	—
K_2SO_4 6		A	—	4	55	—	—
		a	—	15	802	—	—
K_2SO_4 7		A	—	36	—	1420	—
		a	—	32	—	1717	—
K_2SO_4 8	1,0	A	—	55	652	—	—
		a	—	112	1425	—	—
K_2SO_4 8	1,0	B	—	55	653	—	—
		b	—	122	1220	—	—
Na_2SO_4 8	1,0	C	—	60	792	—	—
		c	—	175	1842	—	—
K_2SO_4 9	1,0	A	—	32	127	—	—
		a	—	64	700	—	—

Na_2SO_4 9	1,0	B	—	21	76	—	—
		b	—	62	720	—	—
K_2SO_4 10	1,0	A	—	107	770	—	—
		a	—	105	1467	—	—
K_2SO_4 10	1,0	B	—	102	997	wurden am 3. Tage 5 Stunden später gezählt als A-a Kulturen	
		b	—	100	1830		
Na_2SO_4 10	1,0	C	—	85	1300		
		c	—	122	1800		
K_2SO_4 11	1,2	A	—	41	219	1490	—
		a	—	46	309	2814	—
K_2SO_4 11	1,2	B	—	30	114	—	—
		b	—	34	225	—	—
Na_2SO_4 11	1,2	C	—	42	159	ca. 900	—
		c	—	44	257	—	—
K_2SO_4 12	1,2	A	—	28	94	—	—
		a	—	42	215	—	—
Na_2SO_4 12	1,2	B	—	16	73	—	—
		b	—	32	212	—	—
KSCN 13	1,0	A	—	26	150	150	—
		a	—	126	—	—	—
KCl 13	1,0	B	—	26	—	79	—
		b	—	165	—	1712	—
K_2SO_4 13	1,0	C	—	2	—	2	—
		c	—	130	—	—	—

Versuche mit Natriumsalzen.

Tabelle XV. Natriumchlorid.

NaCl 1	1,0	A	—	9	59	165	206	—
		a	—	13	75	150	295	—
NaCl 2	1,0	A	—	28	104	167	205	—
		a	—	28	120	260	365	—
NaCl 3	1,2	A	—	24	56	65	75	—
		a	—	16	62	62	399	—
NaCl 4	1,0	A	—	17	60	116	152	—
		a	—	60	200	303	408	—
NaCl 5	0,8	A	—	119	475	475	—	—
		a	—	78	480	680	—	—
NaCl 6	1,0	A	—	28	30	102	—	210
		a	—	31	107	340	—	670
NaCl 6	0,8	B	—	27	103	360	—	570
		b	—	—	—	—	—	—
NaCl 7	1,0	A	—	32	222	—	1830	—
		a	—	60	260	—	2100	—
NaCl 8	1,0	A	—	19	114	—	—	2100
		a	—	66	468	—	—	2930
NaCl 9	1,0	A	—	12	115	—	—	—
		a	—	30	175	—	—	—
NaCl 10	1,0	A	—	62	936	—	—	—
		a	—	62	1300	—	—	—
NaCl 10	0,8	B	—	62	1165	—	—	—
		b	—	60	1265	—	—	—

NaCl 11	1,0	A	—	20	108	300	—	—
		a	—	32	180	686	—	—
NaCl 11	1,0	B	—	17	101	443	—	—
		b	—	24	120	580	—	—
NaCl 12	1,0	A	—	16	90	198	—	—
		a	—	32	112	340	—	—
NaCl 13	1,2	A	—	63	—	1710	—	—
		a	—	94	—	1840	—	—
NaCl 14	1,2	A	—	34	—	938	—	—
		a	—	57	—	1017	—	—
			—					
NaCl 15	1,0	A	—	91	1695	5. Tag 1320	—	—
		a	—	60	1010	1500	—	—
			—					
NaCl 15	1,0	B	—	114	1795	—	6. Tag 1734	8. Tag 1382
		b	—	58	927	—	1450	1565
NaCl 16	1,0	A	—	34	—	836	—	—
		a	—	65	—	959	—	—
NaCl 16	1,0	B	—	60	—	945	—	—
		b	—	—	—	—	—	—
NaCl 17	1,0	A	—	18	215	—	—	—
		a	—	30	517	—	—	—
NaCl 18	1,0	A	—	17	47	108	125	—
		a	—	32	169	232	235	—
			—					

Nach den Ausführungen am Anfang des Kapitels ist zu den Versuchen der Tabelle XIV nicht mehr viel hinzuzufügen. Wir sehen, daß alle Versuche mit K_2SO_4 ohne Ausnahme negativ ausfielen und daß die Hemmung zum Teil recht groß war, ganz entsprechend der Stellung des Sulfations am entquellenden Ende der Anionenreihe. Die quellungsfördernde Wirkung des K-Ions ist nicht stark genug, auch nur in einzelnen Fällen so wie das Li-Ion die Wirkung des SO_4-Ions zu kompensieren. Im Durchschnitt ist die Hemmung der Teilungen durch K_2SO_4 wesentlich stärker als die durch KCl. Auch aus dem Versuch 5 geht dies klar hervor. Bei einem direkten Vergleich der Wirkung des K_2SO_4 mit der des Na_2SO_4 an Schwestertieren ergab sich nur in einem Fall die deutlich höhere Zahl für das Na-Salz (Versuch 10) und auch hierbei dürfte es sich, nach den vorhergehenden Zahlen zu schließen, um einen Zufall handeln. In den übrigen Fällen sind die Zahlen für die beiden Sulfate ungefähr gleich oder das Na-Salz hat die geringere Zahl. Es bestätigt sich also für diese fällenden K- und Na-Salze unsere obige Vermutung, daß bei ihnen die hemmende Wirkung des K-Salzes nicht größer ist.

Versuch 13 wurde mit einer Linie ausgeführt, die durch alle Kalisalze (sogar durch das Rhodanid) in ihren Teilungen ganz besonders stark gehemmt wurde. Das Sulfat verhinderte sozusagen jede Teilung.

Wie wir sehen, ist die Wirkung des Natriumchlorides auf die Zellteilung der Paramäzien eine sehr geringe. Die Ausschläge der Versuche liegen zum größeren Teil innerhalb der Fehlergrenze. Nur dadurch, daß eine recht große Anzahl von Versuchen in übereinstimmender Weise doch das gleiche Endresultat, eine schwache Hemmung, zeigt, können wir diesen Befunden einen Wert zuschreiben. In der Auffassung, daß die schwache Teilungshemmung wirklich durch eine spezifische Wirkung des Natriumchlorides veranlaßt wird, werden wir noch dadurch bestärkt, daß in Versuchen mit einer stärkeren und einer schwächeren Konzentration (mit 1,0 u. 0,8 ccm Zusatz wie in Versuchen 4 u. 10) die schwächere Konzentration auch den schwächeren negativen Ausschlag verursacht.

Die Versuche wurden an ganz verschiedenem Material ausgeführt, führten jedoch immer wieder zu demselben recht indifferenten Endergebnis. Ausdrücklich hervorgehoben soll noch werden, daß auch Rassen, die durch LiCl oder KSCN in ihrer Vermehrung stark begünstigt wurden, durch NaCl eine schwache Teilungshemmung erfuhren.

Nur wenige der vielen daraufhin untersuchten Linien zeigten im Kochsalz eine etwas höhere Teilungszahl. Von solchen Versuchen (wie z. B. von Versuch 15) setzte ich, nachdem sie schon etwas hohe Zahlen erreicht hatten, Tochterkulturen an, in der Weise, daß nur eine kleinere Zahl (200) möglichst gleich große Tiere aus der behandelten wie der unbehandelten Kultur weitergeführt wurden. Im Versuch 15 ergab sich hierbei schon in wenigen weiteren Tagen eine fortschreitende Verschiebung des Zahlenverhältnisses zu Gunsten der Kontrolle, bis diese schließlich mehr Tiere aufwies als die Salzkultur. Ist die Ursache der durch das NaCl hervorgerufenen Teilungshemmung, wie mir das nach den obigen Erörterungen über die Wirkung des Kaliumchlorides für alle die Fälle, in denen die Infusorienzelle für Salze nicht gerade besonders schwerdurchlässig ist, am wahrscheinlichsten erscheint, eine allmähliche Erhöhung des Salzgehaltes im Innern der Zellen, so ist zu erwarten, daß bei lange fortgeführten Versuchen die Hemmung noch größer werden kann, und daß sie sich auch in anfänglich positiven Versuchen schließlich doch einstellt.

Von Natriumsalzen wurden nur noch das Sulfat untersucht. Es rief eine starke Verzögerung der Zellteilungen hervor. Die Tabelle XVI führt uns die Zählungen der Na_2SO_4-Versuche vor.

Bei den Natriumsulfatversuchen muß beachtet werden, daß sich in manchen Infusionen die Bakterien bei Na_2SO_4-Zusatz leichter d. h. rascher absetzen können als im reinen Medium. Dem K_2SO_4 fehlte diese Wirkung vollständig. Dadurch, daß man nicht allzu bakterienarme, dünne Infusionen anwendet, in denen das Absetzen rascher eintritt als in stärkeren, weiterhin dadurch, daß man die Kulturen bei etwas niedrigerer Temperatur hält (etwa 20—22°) und sie häufig wechselt, kann man Bakterienunterschiede so gut wie vollständig vermeiden. Bei den meisten der in Tabelle XVI veröffentlichten Versuche habe ich mir in meinen Notizen angemerkt, daß keine Spur eines Bakterienunterschiedes zu finden war, oder daß sogar wie in Versuchen 3 und 7 bei der letzten Zählung die Sulfatkulturen bakterienreicher waren. Im Versuch 3 waren bei der dritten Zählung, im Versuch 10 A u. a bei der ersten beide Kulturen ganz besonders bakterienreich. Trotzdem die Zahlenunterschiede! Trotz reichlichen Bakteriengehaltes der Kulturen sahen die Sulfattiere bisweilen dürrer aus als die Kontrolltiere. Eine etwaige Volumverringerung der Sulfattiere durch Entquellung ihres Plasmas braucht sich nicht gleich in einem Größenunterschied gegenüber den Kontrolltieren zu zeigen, da sich ja die Kontrolltiere viel rascher vermehren, die Sulfattiere also unter-

Tabelle XVI.

Natriumsulfat.

Na_2SO_4 1	1,2	A	—	3	40	170	—
		a	—	8	120	ca. 1300	—
Na_2SO_4 2	1,2	A	—	7	42	182	—
		a	—	27	158	1700	—
Na_2SO_4 3	1,2	A	—	16	—	167	675
		a	—	16	—	282	1505
Na_2SO_4 4	1,2	A	—	8	—	110	398
		a	—	9	—	257	1920
Na_2SO_4 5	1,2	A	—	14	59	154	—
		a	—	19	118	738	—
Na_2SO_4 6	1,2	A	—	6	43	265	—
		a	—	19	102	731	—
Na_2SO_4 7	1,2	A	—	16	—	450	—
		a	—	48	—	2580	—
Na_2SO_4 8	1,2	A	—	16	—	650	—
		a	—	33	—	1847	—
Na_2SO_4 9	1,2	A	—	14	—	130	—
		a	—	25	—	420	—
Na_2SO_4 10	1,2	A	—	16	141	—	—
		a	—	61	401 auch Tote	—	—
Na_2SO_4 10	1,2	B	—	18	80	—	—
		b	—	61	248 auch Tote	—	—
Na_2SO_4 11	1,2	A	—	8	—	414	—
		a	—	8	—	732	—
Na_2SO_4 12	1,2	A	—	14	—	130	—
		a	—	25	—	420	—
Na_2SO_4 13	1,2	A	—	20	141	—	—
		a	—	30	205	—	—
Na_2SO_4 14	1,2	—	—	4	36	—	209
		—	—	8	70	—	270
Na_2SO_4 15	1,0	—	—	5	90	502	—
		—	—	7	61	230	—
Na_2SO_4 16	1,0	—	—	78	409	—	—
		—	—	35	102	—	—

dessen durch die ständige Nahrungsaufnahme die Schrumpfung wettmachen können. Alle Natriumsulfatversuche wurden mit der schon früher wiederholt erwähnten Linie Handschuhsheim H. ausgeführt, welche stark positive LiCl- und KSCN-Versuche lieferte. Daß bei einigen der mitgeteilten Versuche die durch Na_2SO_4 verursachte Hemmung der Teilungen ziemlich gering war, während zwei Versuche sogar positiv ausfielen, könnte nach Erfahrungen, die ich an $MgSO_4$ machte, darin seine Erklärung finden, daß bei diesen Tieren zu wenig SO_4-Ionen in das Plasma gelangt sind, um hier ihre entquellende Wirkung entfalten zu können. Es wurde ja schon an früherer Stelle erwähnt, daß Sulfate in sehr geringen Konzentrationen nicht nur keine Entquellung, sondern sogar eine schwache Quellungssteigerung verursachen.

Versuche mit Magnesiumsalzen.

Vom Magnesiumion läßt sich am schwersten mit einiger Bestimmtheit voraussagen, wie es auf eine Zellart einwirken wird. Das liegt nämlich daran, daß Magnesiumsalze auf verschiedene Kolloide ganz verschieden, zum Teil sogar direkt entgegengesetzt wirken können. So wirken — um die beiden physiologisch so wichtigen Zustandsänderungen der Kolloide, die Fällung und die Quellung, zu besprechen — Magnesiumsalze auf Lipoide in gewissen Konzentrationen ziemlich fällend, auf manche Eiweißkörper hingegen sogar ausgesprochen fällungshemmend. Die Quellung mancher Kolloide, z. B. der Gelatine, wird in neutralen $MgCl_2$-Lösungen beträchtlich gefördert, in sauren oder alkalischen fast so stark gehemmt wie von Erdalkalisalzen. Besteht nun das Plasma bestimmter Zellen oder Gewebe aus Kolloiden, die sich gegenüber der Magnesiumwirkung ganz verschieden verhalten, so könnte die Gesamtwirkung auch eine Aufhebung der entgegengesetzten Einzelwirkungen, also eine ziemliche Indifferenz des Salzes zur Zelle sein. Während Mg-Salze auf bestimmte, interessanterweise sehr lipoidreiche Gewebe wie das Nervensystem physiologisch ganz spezifisch (nämlich anästhetisch) wirken und in gewissen Fällen auch einen starken formativen Einfluß ausüben, d. h. morphologisch verändernd wirken[1]), gelten sie für andere Zellen wieder als sehr indifferent.

---

[1]) Ich verweise auf die Arbeiten von Ch. Stockard über die durch Magnesiumsalze hervorgerufenen Abänderungen der Augenentwickelung bei Fischen. Erwähnt sei: Ch. Stockard, Journ. exp. Zoology 6, 285—337 (1909).

Tabelle XVII.
Magnesiumchlorid.

$MgCl_2$ 1	1,0	A	—	—	191	884	—
		a	—	—	186	800	—
$MgCl_2$ 1	1,0	B	—	—	100	650	—
		b	—	—	199	875	—
$MgCl_2$ 2	1,0	A	—	—	114	576	—
		a	—	—	142	656	—
$MgCl_2$ 3	1,2	A	—	32	—	977	—
		a	—	21	—	925	—
$MgCl_2$ 3	1,2	B	—	30	—	683	—
		b	—	28	—	953	—
$MgCl_2$ 4	1,2	A	—	25	—	1180	—
		a	—	26	—	922	—
$MgCl_2$ 5	1,2	A	—	22	—	1172	—
		a	—	28	—	1110	—
$MgCl_2$ 6	1,2	A	—	17	—	682	—
		a	—	14	—	900	—
$MgCl_2$ 7	1,2	A	—	19	—	—	1315
		a	—	16	—	—	1053
$MgCl_2$ 7	1,2	B	—	15	—	—	1007
		b	—	12	—	—	980
$MgCl_2$ 8	1,0	A	—	16	—	836	—
		a	—	16	—	949	—
$MgCl_2$ 9	0,65	A	—	16	—	841	—
		a	—	16	—	912	—
$MgCl_2$ 10	0,6	A	—	32	—	1136	—
		a	—	16	—	872	—
$MgCl_2$ 10	1,3	B	—	16	—	557	—
		b	—	16	—	803	—
$MgCl_2$ 10	1,3	C	—	17	—	495	—
		c	—	17	—	937	—
$MgCl_2$	1,3	—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—
$MgCl_2$	1,8	—	—	10	—	—	—
		—	—	116	—	—	—
$MgCl_2$	1,8	—	—	11	—	—	—
		—	—	120	—	—	—

Auch in ihrer Wirkung auf die Paramäzienzellen können wir die Magnesiumsalze als sehr indifferent bezeichnen. Magnesiumchlorid ist vielleicht von allen untersuchten Salzen das indifferenteste; auf Einzelheiten der Magnesiumwirkung wollen wir im übrigen erst eingehen, nachdem wir die Zählungsergebnisse kennen gelernt haben. Sie sind in Tabellen XVII und XVIII niedergelegt.

Wie wir sehen, weichen die Zahlen der $MgCl_2$-Versuche bei den üblichen Salzkonzentrationen nur sehr unerheblich von der Kontrolle ab. Bald sind in der behandelten Kultur etwas mehr, bald etwas weniger Tiere. Die Differenzen liegen absolut innerhalb der Fehlergrenzen, dürften also durch Zufälligkeiten bedingt sein.

Das indifferente Verhalten des Magnesiumchlorids könnte auch einfach dadurch bedingt sein, daß es in zu unbedeutenden Mengen in die Zellen hineingelangt, um dort deutlichere Wirkungen entfalten zu können. Wir haben ja an früherer Stelle schon in Betracht gezogen, ob in den Fällen, wenn das sonst so wirksame Lithiumchlorid sich indifferent verhält, dies nicht nur an der Undurchlässigkeit der Membranen für das Salz liegt[1]. — Eine Beobachtung spricht mir dafür, daß $MgCl_2$ permeabilitätsvermindernd wirkt. Wäre das der Fall, so müßte es sich natürlich auch selbst den Eintritt in die Zelle erschweren. Die Beobachtung ist folgende: Stellt man sich eine Infusion durch Aufkochen von Rübenstückchen her, so vermehren sich darin die Paramäzien eine Zeitlang, wenn auch nur kümmerlich. Nach fünf bis sechs Tagen gehen sie meistens ein. Die Infusion scheint also Stoffe zu enthalten, die schädigend wirken. Setzt man nun zur Infusion ein quellungsförderndes, also permeabilitätserhöhendes Salz ($LiCl$) zu, so gehen die Tiere, trotzdem sie anfangs sehr gut aussehen, schon nach 48 Stunden ein. Die giftigen Stoffe scheinen also leichter in die Zellen einzudringen. Setzt man aber $MgCl_2$ zu, so wird das Absterben der Kulturen um mehrere Tage verzögert! Da meine Infusionen schwach alkalisch waren, mußte $MgCl_2$ auf die von diesem Medium umspülten Zellmembranen etwas dehydrierend wirken. Das wäre die Erklärung der Permeabilitätsverminderung.

Bei einer allmählichen Steigerung der Konzentration des $MgCl_2$ in der Infusion von einem Zusatz von 0,6 bis 1,8 ccm sind keine sprunghaften Aenderungen der $MgCl_2$-Wirkung wahrzunehmen. Von

[1] Zusatz bei der Korrektur: Spätere Versuche haben ergeben, daß $MgCl_2$ für Paramäzien und andere Protozoen nur bei Gegenwart genügender Mengen von $CaCl_2$ so indifferent ist. Auch dies spricht für die Permeabilitätshypothese, da im Ca-freien Medium die Durchlässigkeit der Zellen viel größer ist.

Tabelle XVIII. Magnesiumsulfat.

$MgSO_4$ 1	1,2	A a	— —	29 62	— —	350 1118	$MgSO_4$ 7	1,2	B b	— —	85 114	320 808	— —
$MgSO_4$ 2	1,2	A a	— —	34 64	249 575	— —	$MgSO_4$ 7	1,2	C c	— —	81 112	398 577	— —
$MgSO_4$ 3	1,2	A a	— —	16 10	— —	216 613	$MgSO_4$ 8	1,2	A a	— —	22 31	— —	412 500
$MgSO_4$ 4	1,2	A a	— —	16 16	— —	437 1408	$MgSO_4$ 9	1,2	A a	— —	18 18	— —	593 685
$MgSO_4$ 5	1,2	A a	— —	17 32	— —	304 524	$MgSO_4$ 9	1,2	B b	— —	16 15	— —	660 473
$MgSO_4$ 5	1,2	B b	— —	29 30	— —	234 507	$MgSO_4$ 10	1,2	A a	— —	— —	— —	410 400
$MgSO_4$ 5	1,2	C c	— —	26 32	— —	372 487	$MgSO_4$ 10	1,2	B b	— —	— —	— —	435 497
$MgSO_4$ 6	1,2	A a	— —	31 31	— —	1050 1308	$MgSO_4$ 11	1,2	A a	— —	13 16	— —	493 503
$MgSO_4$ 6	1,2	B b	— —	37 25	— —	1252 1400	$MgSO_4$ 11	1,2	B b	— —	16 16	— —	923 475
$MgSO_4$ 7	1,2	A a	— —	99 115	Infusion nicht gewechselt	443 487	$MgSO_4$ 12	1,2	A a	— —	9 13	— —	615 675

1,3 ccm aufwärts macht sich eine allmählich steigende Hemmung der Zellteilungen bemerkbar.

Linien, welche durch LiCl und KSCN in ihrer Vermehrung gehemmt werden, werden es auch durch das indifferente Magnesiumchlorid.

Haben wir schon für Magnesiumchlorid ein schweres Eindringen in die Zellen annehmen müssen, so müssen wir das für Magnesiumsulfat schon gar tun, denn seine dehydrierende, verfestigende Wirkung auf nichtneutrale Kolloide, also zunächst auf die von der Heuinfusion umspülte Oberfläche der Paramäzienzellen, ist noch ausgesprochener. Es wird sich also im Innern der Zellen nur in ganz geringer Konzentration anreichern. Gerade für Sulfate haben wir aber schon früher betont, daß sie erst von einer gewissen Konzentration an entquellend wirken. Es scheint mir somit mit unseren theoretischen Vorstellungen recht gut zu harmonieren, wenn wir sehen (siehe Tabelle XVIII), daß eine stärkere hemmende Wirkung des $MgSO_4$ nur in wenigen Fällen zur Geltung kommt, während in den meisten übrigen Versuchen eine Indifferenz zu Tage tritt, die der des Magnesiumchlorids eigentlich gleichkommt. In einigen Schwestertierversuchen ist der eine Versuch sogar positiv (in auffälligerer Weise z. B. $MgSO_4$ 11 B), da aber Versuch 11 A keine stärkere Vermehrung zeigt als die Kontrolle, dürfte das nur ein Zufallsresultat sein.

Versuche mit Kalziumchlorid.

Für eine exakte Ausführung der Kalziumchloridversuche ergaben sich technische Schwierigkeiten. Setzt man nämlich einer Heuinfusion etwas $CaCl_2$ zu, so können unter Umständen fast alle Bakterien derselben ausgefällt werden, und dann in dicken Flocken in der Infusion schweben oder sich zu Boden senken. In solchen Kulturen pflegen sich sämtliche Paramäzien in den Niederschlag einzubuddeln, und da ihnen nun die Nahrung in konzentriertester Form zur Verfügung steht, sind sie gegenüber den Kontrolltieren natürlich in nicht unwesentlichem Vorteil. In manchen Heuinfusionen war auch nach längerem Stehen nichts von einer Bakterienausflockung bei $CaCl_2$-Zusatz zu sehen. Diese Salzkulturen unterschieden sich von den Kontrollen höchstens dadurch, daß sie an der Oberfläche ein ganz zartes, schillerndes Häutchen entstehen ließen.

Ich verfuhr beim Ansetzen der Kalziumkulturen nun einfach so, daß ich immer zuerst ausprobierte, ob das Kalzium nach 24-stündigem Stehen einen Niederschlag entstehen ließ, oder nicht; nur in letz-

Tabelle XIX. Kalziumchlorid.

$CaCl_2$ 1		A	—	21	—	23	34		$CaCl_2$ 11		A	—	42	285	*) —	—
	0,7	a	—	30	—	59	389			0,75	a	—	37	520	—	—
$CaCl_2$ 2		A	—	18	—	28	65		$CaCl_2$ 12		A	—	32	137	—	—
	0,7	a	—	59	—	83	117			0,75	a	—	63	757	—	—
$CaCl_2$ 3		A	—	31	—	45	359		$CaCl_2$ 13		A	—	33	139	—	—
	0,7	a	—	60	—	290	1227			0,8	a	—	65	859	—	—
$CaCl_2$ 4		A	—	14	28	—	—		$CaCl_2$ 14		A	—	28	201	—	—
	0,7	a	—	95	346	—	—			0,8	a	—	63	475	—	—
$CaCl_2$ 5		A	—	4	32	—	—		$CaCl_2$ 15		A	—	30	124	—	—
	0,7	a	—	21	238	—	—			0,8	a	—	31	243	—	—
$CaCl_2$ 6		A	—	8	68	—	—		$CaCl_2$ 16		A	—	20	86	736	—
	0,7	a	—	16	189	—	—			0,9	a	—	65	487	2520	—
$CaCl_2$ 7		A	—	13	32	207	—		$CaCl_2$ 17		A	—	23	98	—	—
	0,7	a	—	14	65	396	—			0,9	a	—	33	238	—	—
$CaCl_2$ 8		A	—	16	62	212	—		$CaCl_2$ 18			—	12	—	137	—
	0,7	a	—	16	95	427	—			0,3		—	60	—	710	—
$CaCl_2$ 9		A	—	14	84	—	—		$CaCl_2$ 19		A	4	51	57	—	—
	0,7	a	—	28	226	—	—				a	—	—	—	—	—
$CaCl_2$ 10		A	—	16	95	—	—		KSCN 19		B	4	40	1000	—	—
	0,75	a	—	62	487	—	—			1,0	b	2	31	169	—	—

*) Am nächsten Tage verschob sich das Zahlenverhältnis sehr deutlich noch weiter zu Ungunsten der $CaCl_2$-Kultur. Eine genauere Zählung konnte leider nicht mehr ausgeführt werden.

terem Fall wurden die Infusionen für die Versuche verwendet. — In Kulturen mit ausgeflockten Bakterien ist das Zählen der Tiere sehr erschwert.

Die Kalziumchloridkulturen lieferten mir ein sehr eindeutiges Resultat. In vollem Einklang mit unserer Theorie ergab sich in allen Versuchen eine beträchtliche Hemmung der Zellteilungen. Tabelle XIX gibt die Zählungsergebnisse wieder.

Wie bei den meisten andern Salzen wollen wir auch für Kalziumchlorid die Permeabilitätsfrage aufwerfen. Es ist ganz natürlich, daß $CaCl_2$ seine spezifische Wirkung, nämlich die durch Entquellung und Fällung hervorgerufene Verfestigung der Kolloide auch schon bei Berührung mit den Zelloberflächen, den Zellmembranen entfaltet. Es kann auch keinem Zweifel unterliegen, daß solche Veränderungen der Membranen eine beträchtliche Verminderung der Durchlässigkeit bedingen müssen; alle daraufhin gerichteten Untersuchungen anderer Autoren bestätigten ja auch diese Erwartung.

Wir müssen also für Kalziumchlorid jedenfalls eine stärkere Verminderung der Membranpermeabilität annehmen als für irgend ein anders der untersuchten Salze. Damit ist aber noch nicht gesagt, daß wir die ganze Wirkung des $CaCl_2$ auf die Infusorienzelle als eine Oberflächenwirkung ansehen müssen. Es bleibt die mir viel wahrscheinlichere Möglichkeit noch übrig, daß ganz geringe Salzmengen doch noch in die Zellen eindringen, und daß beim $CaCl_2$ (wie das auch von einer Einwirkung auf tote Kolloide bekannt ist) eben auch schon sehr geringe Konzentrationen eine bedeutende Wirkung ausüben können. Es ist erstaunlich, wie tief man mit dem Quantum des $CaCl_2$-Zusatzes zu den Infusionen heruntergehen kann und doch noch eine recht kräftige Hemmung der Zellteilungen erhält. In bakterienarmen Infusionen, in denen durch kleine $CaCl_2$-Zusätze gar keine Ausflockung der Bakterien entsteht, sind schon 0,2 oder 0,3 ccm einer 0.3-m Lösung zu 19 ccm Infusion zugesetzt wirksam. Ich verweise auf die mit so geringen $CaCl_2$-Zusätzen erhaltenen Zahlenunterschiede der Versuche 18 und 19. Entstehen auch bei solchen kleinen Zusätzen Bakterienagglutinationen und damit bessere Ernährungsverhältnisse für die Salzkultur, so kann sie unter diesen Umständen auch positiv ausfallen. Höhere $CaCl_2$-Zusätze bewirken, auch wenn sich die Bakterien zusammenballen, doch immer eine deutliche Verminderung der Zahl der Teilungen. —

Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß man die in dieser Arbeit wiederholt aufgeworfenen Fragen nach der Permeabilität der Infusorien-

zelle für bestimmte Salze nach den Methoden von Balbiani (loc. cit.) und Enriques viel genauer untersuchen und bestimmter beantworten könnte. Da aber das für sich schon eine umfangreiche Untersuchung gewesen wäre, mußte ich davon einstweilen absehen.

Ich glaube, daß für eine solche Untersuchung theoretische Betrachtungen über die Permeabilitätsfragen von der Art, wie wir sie in dieser Arbeit anstellten, als Arbeitshypothese, die möglichst viele diesbezügliche Einzelbeoachtungen von einheitlichem Gesichtspunkt in sich aufnimmt, von Wert sein dürften. Aus diesem Grunde habe ich sie hier vorgebracht und möchte auch, daß sie, soweit sie nicht schon durch Tatsachen direkt bewiesen sind, in diesem Sinne aufgefaßt werden.

* * *

Außer an Paramaecium caudatum wurden nur noch an Paramaecium aurelia und an Stylonichia mytilus wenige Salzversuche, und zwar mit LiCl ausgeführt. Bei beiden Tieren rief der Zusatz von 1,0 ccm 0,3-m LiCl zu 19 ccm Infusion eine nicht geringe Hemmung der Teilungen hervor. Die Stylonichien gingen am zweiten bis vierten Tag in der LiCl-Kultur ganz ein, waren also durch das Salz in irgend einer Weise stark geschädigt. Auch mit einem Zusatz von 0,5 ccm LiCl machte ich nicht viel bessere Erfahrungen. Zwar wurden in diesen schwächeren Salzkulturen nur einzelne Tote gefunden. Es erfolgte aber auch in ihnen eine Hemmung der Teilungen. Irgend ein Anzeichen einer Aufquellung der Tiere war nicht zu erkennen. Letzteres gilt auch für die LiCl-Kulturen mit Paramaecium aurelia.

* * *

Mit Paramaecium caudatum führte ich außer den Salzversuchen auch noch eine Reihe von Experimenten mit organischen Säuren, und zwar Fettsäuren aus, hauptsächlich aus dem Grunde, weil ja die Fettsäuren als ein Mittel, künstliche Parthenogenese hervorzurufen, eine große Rolle spielen. Zu der schwach alkalischen Infusion konnten die Fettsäuren nicht zugesetzt werden, ich versuchte es daher mit einer ganz kurzen Behandlung der Tiere mit der stark verdünnten reinen Säure. Die Versuche wurden mit 0,00025 bis 0,001-n Buttersäure oder ebenso starker Isovaleriansäure angesetzt. Die Tiere waren gegen die Einwirkung der Säuren sehr empfindlich. Bei Behandlung mit keinem einzigen andern Reagenz

zeigten aber verschiedene Paramäzienrassen so große Verschiedenheiten in ihrem Verhalten als eben bei der Einwirkung von Fettsäuren. Die meisten wurden durch die angegebenen schwachen Säurekonzentrationen schon in zwei bis fünf Minuten gelähmt oder getötet, andere hingegen schwammen in derselben Säure 15 oder gar 30 Minuten umher. Die schädigende Wirkung der Buttersäure und der Isovaleriansäure konnte durch einen Zusatz einzelner Salze nicht antagonistisch beeinflußt werden, so wie das nach den Erfahrungen anderer Autoren für möglich hätte gehalten werden können. Offenbar dringen die Fettsäuren viel rascher als die Salze auch in das Innere der Zellen ein, so daß sie dann hier doch allein auf die Plasmakolloide einwirken. — Für gleiche Rassen ergab sich eine auffällige Uebereinstimmung der letalen Konzentration der beiden genannten Säuren.

Die kurze Behandlung der Paramäzien mit den reinen Säuren ergab gar keinen nennenswerten und eindeutigen Einfluß auf die Zellteilung.

* * *

Um der Frage, inwieweit osmotische Vorgänge oder aber Quellungsprozesse die Aufnahme des Wassers in den Zelleib der Infusorien beherrschen, auch noch auf anderm Wege näherzutreten, wurde auch untersucht, was für einen Einfluß ein Zusatz von Kolloiden zu dem natürlichen Medium auf die Zellteilung der Paramäzien ausübt. Der osmotische Druck soll nach den gewöhnlichen Angaben durch einen Zusatz von Kolloiden sehr wenig beeinflußt werden, soweit dagegen diese Kolloide imstande sind, Wasser durch Quellung zu binden und dadurch die Menge des „freien" Wassers zu vermindern, müssen sie die Aufnahme von Wasser in die Zellen durch Aufquellung der Plasmakolloide erschweren. Ein verschieden hoher Zusatz von 0,5 prozentiger Gelatinelösung zu Heuinfusion oder künstlichen Salzgemischen (etwa 1/20 Ringer-Lösung) rief nun in allen Fällen eine deutliche Hemmung der Teilungen hervor. In einer Infusion, die 1/5 Volum 0,5 prozentiger Gelatine enthielt, kam es in 48 Stunden kaum zu ein bis zwei Teilungen. Die Tiere sahen stets sehr wohlgenährt aus. Bakterien entwickelten sich in der Mischung reichlich.

Auf welche Weise wirkt eine gesteigerte Wasserzufuhr auf die Zellteilung ein? Was dürfte die unmittelbare Folge der künstlichen und die Ursache einer normalen Quellungssteigerung der Plasmakolloide sein?

Nachdem ich nun alle Tatsachen, die ich auf experimentellem Wege ermitteln konnte, mitgeteilt habe, könnte ich eigentlich die Publikation hier abschließen. Die Beobachtungstatsachen sind nun aber derart, daß sich eine ganze Reihe bedeutsamer Konsequenzen aus ihnen ergeben, und vor allem auch solche Konsequenzen, die zu neuen experimentellen Untersuchungen auffordern, und zu diesen ein schon recht scharf umschriebenes Programm liefern. Ich habe zwar auch selbst vor, auf diesem Gebiete später noch weiterzuarbeiten; wann ich aber diese Arbeiten fortsetzen und wann ich sie zu einem gewissen Abschluß bringen kann, weiß ich selbst noch nicht. Es erscheint mir daher eine gewisse Berechtigung zu haben, das Gedankengebäude nicht bruchweise, sondern schon hier unter einheitlichem Gesichtspunkt vollständig auszubauen. Auch die folgenden theoretischen Abschnitte mögen als Arbeitshypothesen aufgefaßt werden, die dann später durch Tatsachen bewiesen oder widerlegt werden müssen. — Wir haben gesehen, daß es möglich ist, durch starke Quellungsmittel Zellteilungen anzuregen und sie durch entquellend wirkende Stoffe zu hemmen, und konnten es auch recht wahrscheinlich machen, daß die angewandten Stoffe wirklich durch Beeinflussung des Quellungszustandes der Plasmakolloide wirken. Es drängt sich uns da sogleich die Frage auf, auf welche Weise nun die Verflüssigung der Kolloide in die Veränderungen im Zelleib, die zur Zellteilung führen, eingreift. Daß nicht die Volumzunahme an sich teilungsfördernd wirkt, ist ja klar. Es dürfte sich überhaupt vorwiegend um indirekte Wirkungen der Wasserzufuhr handeln. Als direkte Erleichterung des Zellteilungsprozesses könnte sich eine Verflüssigung der Zellkolloide höchstens bei Zellen mit bestimmter Eigenform und festeren Plasmastrukturen bemerkbar machen (also etwa bei Epithelzellen), indem sie das Inkrafttreten der Oberflächenspannung ermöglicht. Sind nämlich die dichteren Kolloide der Zellen der genannten Art, die diesen eine bestimmte Form aufzwingen, verflüssigt, so wird die Form der Zelle jetzt ausschließlich durch die Gesetze der Hydrodynamik bestimmt, d. h. *die Zelle muß sich* zunächst unter der Wirkung der Oberflächenspannung *abkugeln*, wie wir das ja auch tatsächlich von dem ersten Stadium zahlreicher Mitosen kennen. Wir können auch

umgekehrt aus dieser Tatsache, daß Zellen mit spezifischer Form sich vor der Zellteilung stets abkugeln, daß dabei spezifische Plasmastrukturen (wohl dichteres Plasma) verschwinden und daß die Zellen nach meinen Erfahrungen im gefärbten Schnitte häufig schwächer gefärbt erscheinen als die normalen Zellen, mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß eben eine Verflüssigung der Kolloide der Zellen, die sich zur Teilung anschicken, stattfindet[1]).

An dieser Stelle möchte ich noch darauf hinweisen, daß gewisse pathologische Gewebe, deren Zellen in fortschreitender Wucherung begriffen sind, häufig Zellelemente aufweisen, deren Hauptcharakter auch gerade eine gewisse Verquellung der Kolloide zu sein scheint. So spricht der Pathologe bei zahlreichen Geschwülsten (Sarkomen und Karzinomen) besonders bei den bösartigen (malignen) oft von einem „embryonalen" Zustand der Zellen. Dieses embryonale Aussehen der Zellen äußert sich besonders bei solchen Zellarten in auffälliger Weise, die normalerweise eine besonders charakteristische Eigenform besitzen (Knochenzellen, Muskelzellen, Ganglienzellen u. a.) oder aber fibrilläre Strukturdifferenzierungen aufweisen (wie die Muskelzellen, Nervenzellen u. a.). Fibrilläre Differenzierungen sind kolloidchemisch (ich wiederhole es) doch wohl sicher als lokale Gelbildungen aufzufassen. Ihr Verschwinden in den pathologischen Geweben wäre also eine Umbildung von Gel zu Sol. Langgestreckte oder dauernd verzweigte Zellen können ihre Form nur behalten, wenn sie nicht durchwegs aus Solen bestehen. Wenn also Muskelzellen, Nervenzellen, Knochenzellen und Epithelzellen in den malignen Geschwülsten zu abgekugelten oder eventuell veränderlich polymorphen Zellelementen von völlig indifferentem Aussehen werden, bisweilen aber aufgeblähte Blasen darstellen, so kann das nur in einer Verflüssigung der Zellkolloide, die durch pathologische chemische Veränderung hervorgerufen wird, seine Ursache haben. Alle diese „embryonalen" Zellelemente zeichnen sich nun durch überaus lebhaftes Teilungsvermögen aus.

Schließlich weise ich auch noch darauf hin, daß auch in regenierendem Gewebe, das also auch in lebhafter Vermehrung begriffen ist, Zellelemente mit „embryonalem indifferenten" Charakter, deren Plasmakolloide durchwegs in Solzustand sind, vorherrschen.

Wie aber kann eine Verflüssigung der Kolloide auf die inneren Veränderungen der mitotischen Zelle einwirken? Zwei Möglichkeiten

---

[1]) Durch die in dieser Arbeit publizierten Beobachtungen erscheinen auch die Detailfragen der Zellteilung, die ich in meiner Arbeit über den Mechanismus der Zellteilung (**1**, 105, [1918]) erörtert habe, in neuem Lichte.

stehen da im Vordergrund. Erstens kann der Gasstoffwechsel durch die aufgequollenen Kolloide sicherlich leichter stattfinden, also die Kohlensäure leichter entweichen und der Sauerstoff leichter eindringen. Die Beeinflussung (Förderung) der Oxydationsprozesse durch eine Aufquellung der Plasmakolloide wäre für sich ein noch experimentell zu erforschendes Problem. Die zweite Möglichkeit, wie das Wasser bei den mitotischen Veränderungen mitwirken könnte, ist die, daß es direkt zu gewissen chemischen Prozessen verwendet wird, daß also etwa hydrolytische Prozesse besser ablaufen, wenn in die Zelle leichter und reichlicher Wasser hineingelangt. Von den bisher erkannten chemischen Umwandlungen, die vor der Zellteilung stattfinden, beansprucht die Neubildung von Nukleoproteiden das lebhafteste Interesse. Plasmastoffe werden abgebaut und zur Synthese der chromatischen Substanzen verwendet. So sucht man im Lezithin den Phosphorsäure-Lieferanten der Nukleinsynthese. Die Sprengung des Lezithinmoleküls aber hat Hydrolysen zur Voraussetzung. Aus diesem Beispiel geht die Bedeutung der hydrolytischen Prozesse bei den chemischen Veränderungen der mitotischen Zelle klar genug hervor. Hydrolysen sind die erste Vorbedingung zum chemischen Umbau.

Wir wollen nun auch einmal die Frage aufwerfen, welche zeitliche Aufeinanderfolge sich bei genauerer Untersuchung zwischen einer gesteigerten Wasseraufnahme (bezüglicherweise zwischen den für eine solche sprechenden Anzeichen) und der durch Färbungsmittel erkennbaren Chromatin-(Nukleoproteid-)Vermehrung bei den verschiedenen Zellformen ermitteln läßt.

Für die Paramäzien ist es, wie schon früher berichtet wurde (siehe S. 17) eine erwiesene Tatsache, daß das Wachstum zu einem guten Teil durch reine Wasserabsorption erfolgt. Das Wachstum ist aber hier ein ganz kontinuierliches, ohne irgend eine plötzliche Zu- oder Abnahme. Speziell für die erste Periode nach der Zellteilung ist eine starke Beteiligung der Wasserzufuhr am Wachstum von Estabrook (loc. cit.) nachgewiesen. Die Wasseraufnahme wird ja aber jedenfalls auch später, wenn nur auch die organische Substanz durch Nahrungsaufnahme ständig vermehrt wird, nicht aufhören. Zur Zeit der Vorbereitung der Zellteilung ist kein Anzeichen einer noch besonders gesteigerten Wasserabsorption vorhanden.

Bei den Süßwasser-Testazeen beginnt das sehr rasch erfolgende starke Wachstum, die plötzliche Hervorquellung ihres Plasmas aus dem Gehäuse — wir können uns am besten an die Beobachtungen von W. Schewiakoff (loc. cit.) an Euglypha halten — zu einer

Zeit, wo von einer Teilungsspindel noch gar nichts zu sehen ist und auch der Kern noch keine auffälligeren Veränderungen zeigt. Diese setzen dann aber sehr bald ein und führen zu einer Aufblähung der Kernblase und zur Vermehrung des Chromatins, die ungefähr zu gleicher Zeit mit der Beendigung der Volumzunahme des Plasmaleibes ihren Höhepunkt erreicht (Stadium der Fig. 6 u. 7 *Schewiakoff's*, in der die Zentrosomen erscheinen und die Spindelbildung beginnt). Man kann also bei der *Euglypha* nicht vielleicht eine erste Periode reinen Plasmawachstums und eine zweite darauffolgende der Chromatinsynthese unterscheiden, beide Prozesse liegen hier zeitlich sehr nahe beieinander, fallen mehr oder weniger zusammen, laufen aber immerhin noch so ab, daß man es für möglich halten muß, daß in der Periode immer weiter zunehmender Wasseraufnahme durch diese auch die Nukleinsynthese noch mächtig gefördert wird.

Ein ähnliches zeitliches Zusammenfallen zwischen der Wasseraufnahme und der Chromatinvermehrung läßt sich nach den Angaben von F. *Reinke* (loc. cit.) auch für die Mitosen der Endothelzellen der Blutkapillaren von Salamanderlarven konstatieren, und die Aufblähung der Furchungszellen der kleinen Nematoden, die ich schon an früherer Stelle besprochen habe, erfolgt auch in derselben Periode. Sie hält dann noch eine Zeitlang an, wenn die Strahlenbildung schon erloschen ist und die neuen Tochterkerne schon in Ausbildung begriffen sind. Diese Beobachtung an den Furchungsblastomeren brachte mich zum ersten Mal auf den Gedanken, ob *nicht gerade die besonderen Zustandsänderungen der sich teilenden Zelle*, die uns hier am meisten interessieren, also *die Erhöhung der Wasserzufuhr und der Permeabilität mit allen ihren in Betracht gezogenen Folgeerscheinungen auch schon weitere Veränderungen im Zelleib hervorrufen, die dann automatisch zur nächsten Teilung führen müssen.* Die genannten physikalischen Zustandsänderungen des Zelleibes werden ja natürlich nicht nur auf die Nukleinsynthese einwirken (diese wurde ja eigentlich nur als herausgegriffenes Beispiel erörtert), sondern auch auf andere chemische Prozesse ihren Einfluß haben; daß also die Nukleinsynthese nicht ununterbrochen immer weiter gesteigert wird, sondern sogar das schon gebildete Chromatin nach der Teilung zum Teil wohl wieder abgebaut wird (neue hydrolytische Prozesse?) spricht noch nicht gegen die Vermutung, daß jede Zellteilung automatisch in gewissem Grade eine weitere Teilung anregt. Auch daß zum Zustandekommen dieser nächstfolgenden Teilung unter Umständen noch

weitere Bedingungen (Nahrungsaufnahme usw.) erfüllt sein müssen, ist kein widerlegendes Argument. Wir werden auf diesen Gedanken später noch einmal zurückkommen.

Auch die Ursachen einer normalerweise vor der Zellteilung eintretenden Verflüssigung der Kolloide, bezüglicherweise einer direkten Wasseraufnahme wollen wir hier in den Kreis unserer Erörterungen einbeziehen, und zwar um so mehr, als ich die Untersuchung dieser Frage ganz und gar für ein Kapitel der Kolloidchemie der Quellung halte. Nachdem wir nun zur Genüge wissen, daß die Quellbarkeit der Kolloide sich in hohem Grade durch andere Stoffe beeinflussen läßt, müssen wir nun auch einmal in Erwägung ziehen, wie eine plötzliche starke Steigerung der Wasserabsorption der Euglypha oder den erw. Endothelzellen zustande kommen kann. Viele andere Möglichkeiten, die Quellbarkeit zu steigern, dürften ja auch der Zelle nicht zur Verfügung stehen außer denen, über die auch wir bei unseren Reagenzglasversuchen verfügen. Daß irgend eine Aenderung des Salzgehaltes der Zelle bzw. der Mengenverhältnisse der Salze die alleinige Ursache jener Quellungserscheinungen sein könnte, erscheint mir nicht sehr wahrscheinlich. Es fehlen uns auch einstweilen alle Anhaltspunkte, bestimmte Möglichkeiten ins Auge zu fassen.

Es bliebe dann eigentlich nur übrig, daß geringe Mengen eines Alkalis oder einer Säure in der mitotischen Zelle entstehen. Auch schon, weil Säuren und Alkalien die stärksten Quellungsförderer überhaupt sind, muß man eigentlich in erster Linie auch in unserm Fall an sie denken. Das Auftreten einer Säure hat vielleicht weniger Wahrscheinlichkeit als das einer Base. Ich möchte da die Aufmerksamkeit darauf lenken, daß man schon öfters[1]) zu dem Schluß gelangt ist, daß bei der Teilung als ein Nebenprodukt der Nukleinsynthese Cholin, eine schwache Base, entstehen müsse. Würde nun in Zukunft durch experimentelle Untersuchungen wirklich der Nachweis gelingen, daß vor der Teilung eine basische (oder vielleicht auch saure) Reaktion des Protoplasmas oder bestimmter Regionen desselben eintritt, so wäre damit eine Entdeckung gemacht, aus der sich sehr weitgehende Konsequenzen ergeben würden. Wir brauchen da nur folgende Punkte zu bedenken: Bei der Aufquellung der Plasmakolloide wird allmählich auch den im Außenmedium gelösten Stoffen der Eintritt in die Zelle erleichtert. Dies wäre nun besonders für die Neuaufnahme von Salzen von Bedeutung, die aber natürlich nur dann

---

[1]) T. B. Robertson, Arch. f. Entwicklungsmech. 27 (1909).

erfolgen kann, wenn die Zellen überhaupt noch imstande sind, durch Osmose oder Adsorption Salze aufzunehmen. Salze wirken nun mit den Alkalien in bezug auf die Beeinflussung der Quellung antagonistisch, durch eine gesteigerte Zufuhr von Salzen in das Plasma müßte dann also wieder eine Entquellung der Plasmakolloide bewirkt werden. Das plötzliche Aufhören der Aufquellung der mitotischen Endothelzellen, die F. Reinke (loc. cit.) beschreibt, das rasche Aufhören der Aufblähungserscheinung der Furchungsblastomeren der Nematoden würden also durch das Eindringen von Salzen eine einfache Erklärung finden.

Für den Beginn der Entwickelung des tierischen Eies wurde schon an mehreren Objekten (Frösche, Vögel) nachgewiesen, daß in diesen frühen Stadien der osmotische Druck der Zellen ein wesentlich geringerer ist als der der Zellen des ausgewachsenen Organismus. Sobald dann den Zellen entweder vom Außenmedium oder von inneren Körperflüssigkeiten Salze zur Verfügung stehen[1]), müssen auch wieder Salze in die Zellen aufgenommen werden und dies besonders in solchen Perioden, wenn die Permeabilität der Zellen, so wie wir das also auch für die Zellteilungen annehmen, besonders gesteigert ist. Ja, vielleicht geschieht die Salzaufnahme in einzelnen Fällen, da ja viele Zellarten für Salze sehr schwer durchlässig sind, überhaupt nur in diesen Perioden in physiologischen Grenzen gesteigerter Permeabilität. Der Salzgehalt der Embryonalzellen (und vermutlich auch noch vieler anderer Zellen), die eine Reihe von Teilungen durchmachen, wird somit immer höher werden. Es konnten auch in der Tat z. B. Backman und Runström[2]) sowie Bialaszevicz[3]) in ihren soeben zitierten Arbeiten über den Salzgehalt der Zellen von Frosch- und Vogelembryonen eine fortschreitende Steigerung des Salzgehaltes feststellen[4]), der dann z. B. beim Hühnchen nach dem 18. Tag, beim Frosch am 30.—35. Tage nach Entwickelungs-

[1]) Bei Seetieren wäre diese Bedingung natürlich von allem Anfang an gegeben, der Hühnerembryo hingegen ist anfangs in das salzarme hypotonische Eiweiß eingebettet. Wie die Verhältnisse bei den Fröschen liegen, läßt sich solange nicht mit Sicherheit angeben, als man die Zusammensetzung des perivitellinen Saftes nicht kennt.

[2]) E. L. Backman u. Runström, Biochem. Zeitschr. **22**, 290—298 (1909). Siehe auch Arch. f. ges. Physiol.

[3]) E. Bialaszevicz, Arch. f. Entwicklungsmech. **34**, 489—540 (1912).

[4]) Daß die Steigerung des Salzgehaltes beim Froschembryo anfangs nicht ganz kontinuierlich ist, könnte ja daran liegen, daß so wie die Gallerte, auch der perivitelline Raum sehr salzarm ist und erst später durch Aufspaltung des Dotters vom Körperinnern aus Salze und andere osmotischeSubstanzen verfügbar werden.

beginn den Wert erreicht, den die Zellen des ausgewachsenen Tieres aufweisen. — Je höher nun aber die Konzentration der Salze in den Plasmakolloiden ist, um so mehr wird dadurch die Möglichkeit einer Quellungssteigerung derselben durch Alkalien herabgesetzt, um so geringer wird vor den Zellteilungen die Wasseraufnahme bzw. die Veränderung der Kolloide im Sinne Gel ⟶ Sol, um so geringer die Permeabilitätssteigerung, kurz, alle „teilungsfördernden" Faktoren müssen abgeschwächt werden. Bei sich immer weiter teilenden Zellen, also z. B. den Embryonalzellen, bringt also jede Teilung auch eine Verschlechterung der Chancen für die folgenden Teilungen mit sich, es wird also eine stetig zunehmende Verlangsamung des Teilungsrhythmus eintreten müssen. Beim Embryo werden dann schließlich je nach der Quellbarkeit der Kolloide der verschiedenen Zellen größere oder kleinere Zellkomplexe die Teilungen überhaupt einstellen. Der zum Teil ja recht auffällige plötzliche Stillstand der lebhaften Zellwucherungen bei der Anlage einzelner Organe und schließlich auch der Stillstand der Teilungen beim ausgewachsenen Organismus läßt sich aus den erörterten Verhältnissen ohne weiteres verstehen. Das Wiedereinsetzen von lebhaften lokalen Zellwucherungen nach der Furchung habe ich schon an früherer Stelle (loc. cit. 2, 305 ff. [1918]) so erklärt, daß durch chemische Aenderungen der Plasmabausteine die Quellbarkeit der Zellen dieser Bezirke gesteigert wird. Ueberall dort, wo sich in den Zellen gut quellbare Stoffe anhäufen, werden diese gerade so wirken, wie wenn wir in unsern Versuchen durch Zusätze zum Außenmedium die Quellung des Plasmas steigern, es wird also zu Zellwucherungen kommen. Ueber das Auftreten gutquellender Kolloide in embryonalen Organanlagen und allen seinen Folgeerscheinungen habe ich schon in meiner Gastrulaarbeit ausführliche Betrachtungen angestellt.

Die Ausführungen auf den letzten Seiten lassen auch die früher mitgeteilten Beobachtungen über die teilungshemmende Wirkung besonders leicht eindringender Salze in ganz neuem Licht erscheinen.

Je höher der Wassergehalt von Zellen von vornherein ist, um so geringer wird die absolute Steigerung der Aufquellung der Zellen zu sein brauchen, um zur Teilung zu führen. Sie wird aber auch nicht sehr groß sein k ö n n e n, wenn eben die Kolloide schon reichlich Wasser enthalten. Da die frühen Embryonalstadien der Tiere schon recht wasserreich sind, braucht es uns auch nicht zu wundern, daß die Aufquellungserscheinungen bei der Teilung z. B. bei den Furchungszellen recht unauffällige sind, oder daß auch bei Paramäzien, die eigentlich dauernd Wasser aufnehmen, vor den Teilungen nicht noch

eine besondere Erhöhung der Wasserabsorption stattfindet. An Paramäzien, die ich mit Neutralrot vital gefärbt hatte, konnte ich während der Zellteilung keinen Umschlag der roten Farbe des Indikators in Gelb wahrnehmen. Nach dem eben Gesagten hatte ich es aber eigentlich auch nicht erwartet und halte das auch noch nicht für einen Beweis gegen unsere Vermutung, daß bei anderen Zellen vor der Teilung eine freie Base gebildet werden dürfte[1]).

Das lokale Auftreten einer Base oder irgend eines andern starken Quellungsförderers in dem mitotischen Zelleib in der Art, wie wir das oben annahmen, daß dieser Stoff bei der Kernsynthese entsteht und von dem Kern in die nächstgelegenen Zonen des Protoplasmas gelangt, müßte auch noch andere bedeutsame Folgen haben. Daß zunächst eine starke Aufquellung der Kolloide des Kernes selbst stattfinden müßte, ist klar und wird uns ja auch am schönsten durch direkte Beobachtung am lebenden Material in überzeugender Weise vor Augen geführt. Der Kernsaft dürfte ja jedenfalls auch quellbare Kolloide enthalten. Man sieht die Kernblase in kurzer Zeit immer stärker anschwellen, bis schließlich die Kernmembran platzt und der Kernsaft ins Plasma austritt. Durch Diffusion durch die Membran könnte auch schon vorher etwas von den Kernstoffen ins Plasma gelangt sein.

In dem Stadium der starken Aufblähung des Kernes sind in der Regel die Astrosphären schon gut ausgebildet und der Zelleib in die Länge gestreckt. Unter diesen Umständen müssen nun vom Kern ausdiffundierende Stoffe hauptsächlich die Aequatorzone der Zelle erfüllen. Hauptsächlich diese wird also die Aufquellung erleiden. Die Pole sind ja sogar durch die Strahlungen zu ausgesprochenen Verdichtungszentren geworden. (Siehe Spek, 1918, 1.) In Anbetracht dessen, daß es uns nun möglich ist, nachzuweisen, daß bei der Zellteilung am Zelleib ganz gesetzmäßige Oberflächenspannungsdifferenzen entstehen, die die Durchschnürung der Zelle zur Folge haben (ich verweise auf Spek, 1918, 1), daß sich im Speziellen ergeben hat, daß die Aequatorzone der Zelle ein Gebiet absolut erhöhter Oberflächenspannung ist, müssen wir uns nun auch fragen, wie eine Alkalisierung des Plasmas auf die Oberflächenspannung der Aequatorzone einwirken muß. Messungen der Oberflächenspannung, die F. Botazzi[2]) an stark

---

[1]) Neutralrot ist allerdings auch kein sehr empfindlicher Indikator.

[2]) F. Botazzi u. É. Dagostino, Rendicont. Accad. dei Lincei **22**, Ser. V (1913).

hydratisiertem Säure- oder Alkalieiweiß ausführte, ergaben nun, daß sowohl durch einen kleinen Alkali- als auch durch einen kleinen Säurezusatz die Oberflächenspannung des Eiweißes ganz beträchtlich gesteigert wird. Auch dies würde also in bestem Einklang mit unserer Vermutung stehen!

Die genannten Autoren fanden weiter, daß bei einer Dehydrierung des Alkali- oder Säureeiweißes durch einen Salzzusatz auch die Oberflächenspannung wieder herabgedrückt wird. Es müßte also bei den lebenden Zellen, sobald einmal das Eindringen der Salze in die durchlässigere Aequatorzone einsetzt, allmählich eine Aenderung der Oberflächenspannung derselben stattfinden in der Weise, daß gerade ein Umschlag in eine lokale Oberflächenspannungsverminderung eintritt. Auch für diese Vermutung sprechen bestimmte Beobachtungstatsachen, die mir noch von meinen ersten Studien über die Furchung bei kleinen Nematoden recht gut bekannt sind, mir aber damals gänzlich unverständlich waren. Gleich nach Ablauf der Teilung sind nämlich die Nematodenblastomeren noch vollständig kugelrund. Sehr bald aber entstehen ringsum an der ganzen ehemaligen Aequatorzone eine ganze Reihe unregelmäßiger kleiner Vorwölbungen der Zelloberfläche. In alle diese kuppenförmigen Pseudopodien strömt das Plasma immer in einem axialen Vorstrom vor. Die Polbezirke der Zellen bleiben stets ganz glatt, ohne jede Ausbuchtung. Versucht man auch diese Veränderungen der Aequatorzone auf Oberflächenspannungsdifferenzen zurückzuführen, so wie wir zwingende Gründe haben, überhaupt bei jeder Formveränderung dieser leichtflüssigen Zellen die Rolle etwaiger Oberflächenspannungsdifferenzen genau zu untersuchen (siehe Spek, 1, 1918), so ist nur die Deutung möglich, daß in der ganzen ehemaligen Aequatorregion die Oberflächenspannung in etwas unregelmäßiger Weise wieder herabgesetzt wird. (Ich verweise auf meine Oberflächenspannungsarbeit.) Mit dieser Oberflächenspannungsänderung hängt es dann jedenfalls auf irgend eine, mir noch nicht ganz klare Weise zusammen, daß sich die Blastomeren — wie übrigens auch bei den meisten andern Tieren — bald mit ganz gerader Fläche aneinander legen, um später erst wieder kugliger zu werden. — Die beschriebenen Veränderungen der Aequatorregion, die einem zunächst ganz absurd erscheinen, werden also geradezu ein Postulat unserer theoretischen Vorstellungen, wenn wir diese in allen Konsequenzen ausdenken. — Zum Schlusse muß noch hervorgehoben werden, daß die Oberflächenspannung neutraler Eiweißkörper durch Salze nicht vermindert, sondern sogar erhöht wird.

Eine Frage muß nun noch geklärt werden. Oben wurde angenommen, daß die Aufquellung der Zellkolloide fördernd auf die Nukleinsynthese einwirkt. Später zogen wir dann in Betracht, ob nicht gerade Nebenprodukte der Nukleinsynthese die Verursacher der Aufquellung der Kolloide werden könnten. Ist das nun nicht ein Widerspruch? Ich denke nicht. Denn der erste Anfang der Nukleinsynthese kann ja wohl auch bei normaler Wasser- und Sauerstoffzufuhr erfolgen. Sobald dann die quellungsfördernden Nebenprodukte entstehen, setzt die Zustandsänderung der Plasmakolloide ein, die nun ihrerseits wieder auf die Nukleinsynthese fördernd zurückwirkt; und so würde ein Prozeß den andern immer weiter steigern, wenn nicht durch Hinzutreten eines andern Faktors (vielleicht der Salze) ein Riegel vorgeschoben würde, der schließlich die Veränderungen in andere Bahnen lenkt. Jedenfalls liegt also in den beiden Annahmen kein Widerspruch, sondern ein solcher Zustand der Dinge würde sogar eine besonders gute „Sicherung" (L. Rhumbler) der beiden physiologisch wichtigen Prozesse bedeuten. — Für den Fall von Euglypha, der oben genauer besprochen wurde, wäre noch in Betracht zu ziehen, daß sich nach den Angaben von W. Schewiakoff (loc. cit) vor den durch Färbung wahrnehmbaren Veränderungen des Kerns auch im Plasma in der Kerngegend chromatische Substanzen zu bilden scheinen, die dann später verschwinden (vielleicht in den Kern aufgenommen werden).

Die Probleme der künstlichen Parthenogenese.

Wir sahen in der Einleitung, daß auch für die Mittel, mit denen wir künstliche Parthenogenese herbeiführen können, die quellungsfördernde Eigenschaft eine bedeutsame Rolle spielt. Die Reihe der Parthenogenetica, für welche man dies in überzeugender Weise geltend machen kann, wird sicherlich noch vergrößert werden, wenn wir zu einigen bekannten parthenogenetischen Methoden von unsern Gesichtspunkten noch gewisse Kontrollversuche ausführen. So ist z. B. bei der künstlichen Entwickelungserregung von Chaetopterus durch Spuren von KCl [A. D. Mead[1]) und später J. Loeb[2])] sehr wohl zu bedenken, daß KCl das die Quellung am besten fördernde Salz des Seewassers ist, daß es auf bestimmte Kolloide weit besser quellungsfördernd

[1]) A. D. Mead, Biolog. Lectures delivered at Woods Hole 1896/97.
[2]) J. Loeb, Künstliche Parthenogenese (Leipzig 1906), 167 ff.

wirkt als Na-Salze. Versuche mit mehreren Kalisalzen aus verschiedenen Stellen der Quellungsreihe und mit ganzen Konzentrationsreihen würden die Beurteilung dieser spezifischen Salzwirkung viel sicherer gestalten. Gerade für Kalium zeigten unsere Paramäzienversuche, daß es bei gewissen Konzentrationen die Zellteilungen auch in gerade entgegengesetzter Weise beeinflussen kann. Es kommt darauf an, ob bei dem verschiedenen Zellenmaterial die Quellungsförderung oder eine zu starke Anreicherung des K-Salzes in der Zelle, welche dieser folgen kann, den Ausschlag gibt. Eine schädigende Wirkung durch Ueberladung der Zellen mit dem Salze kann man erst von höheren K-Konzentrationen erwarten, ein positives Resultat um so sicherer, je ausgesprochener die quellungsfördernde Wirkung schon bei kleinen K-Mengen ist. Daß bei der Chaetopterus-Parthenogenese auch wirklich schon kleine Zusätze von KCl wirksam sind, spricht also auch für eine Quellungsförderung durch das KCl.

Weshalb die Entwickelungserregung der Seeigeleier durch Erhöhung der Konzentration des Seewassers durch Magnesiumsalze besser gelingt als bei andern Salzzusätzen, ist auch noch eine ungeklärte Frage, die durch Kontrollversuche der genannten Art beantwortet werden könnte.

Viele Mittel der Parthenogenese wirken nicht schon, solange Eier noch mit ihnen in Berührung sind, sondern der Entwickelungsbeginn tritt erst ein, wenn die Eier wieder in normales Seewasser zurückgebracht werden. Es wäre nun zu untersuchen, inwieweit auch solche Mittel, die direkt eine Wasserentziehung bedingen müssen, die Zellkolloide so verändern könnten, daß diese nachher in reinem Seewasser (bzw. dem normalen Medium) nun sogar einer viel besseren Verflüssigung fähig sind. Möglich erscheint dieser Fall ohne weiteres, das kann uns aus Folgendem klar werden: Durch eine direkte Wasserentziehung (etwa durch Austrocknen) oder durch Temperaturverminderung wird in kolloiden Lösungen eine Verminderung des Dispersitätsgrades, eine Verschmelzung der Partikelchen des Kolloides zu größeren Teilchen bedingt[1]). Diese Veränderungen erfolgen meist nicht sehr rasch und gehen auch nur allmählich wieder zurück, nachdem z. B. die Temperatur wieder erhöht worden ist. Das Kolloid, welches wir also jetzt wieder unter den alten Außenbedingungen haben, befindet sich nicht mehr im selben Zustand. — Nach den Angaben von Arisz (loc. cit.) erfolgt nun die Quellung unter Zerfall größerer Kolloid-

---

[1]) L. Arisz, Kolloidchem. Beih. 7 (1915).

partikelchen zu kleineren. Je größer und zahlreicher die Partikel von vornherein waren, um so länger kann der Prozeß fortschreiten, um so mehr Wasser kann aufgenommen werden. Unser Kolloid mit seiner bestimmten thermischen oder sonstigen Vorgeschichte ist nun also imstande mehr Wasser aufzunehmen als es dies vor der Behandlung vermocht hätte.

Bei vorübergehender Behandlung unbefruchteter Eier mit hypertonischen Lösungen oder niederen Temperaturen wäre eine nachwirkende Zustandsänderung im erörterten Sinne sehr wohl in Betracht zu ziehen. Die hypertonische Lösung entzieht zunächst den Zellen Wasser, durch diese Wasserentziehung wirkt sie auch direkt auf die Kolloide verändernd ein. Beim Uebertragen in normales Seewasser wird dann der Wasserverlust auf osmotischem Weg wieder ausgeglichen. Außerdem sind aber die Zellkolloide jetzt bei ihrem geänderten Zustand noch im Stande durch Quellung mehr Wasser zu binden, da jene Zustandsänderung noch eine Zeitlang erhalten bleibt. Ich bin aber nicht im geringsten etwa der Ansicht, daß das Resultat dieser Betrachtungen in ähnlicher Weise sich für alle Fälle vorübergehend wirkender Parthenogenetika anwenden ließe. Die Frage muß unter Berücksichtigung aller Nebenumstände von Fall zu Fall untersucht werden. Wenn z. B. E. Bataillon, ein Verfechter der Theorie, daß gerade Wasserentziehung Zellteilungen anrege, allerdings ohne die geringste Beziehung auf tatsächliche physikalische Beobachtungen annimmt[1]) daß in Y. Delage's CO_2-Versuchen, die Kohlensäure, solange die Eier in ihr sind, vielleicht quellend wirkt, dann aber nachträglich dehydrierend wirken soll, so muß das entschieden bezweifelt werden. Die Kohlensäure erhöht jedenfalls bei direkter Wirkung die Verquellung der Eikolloide (wie aller Kolloide). Werden die Eier dann in normales Seewasser zurückgebracht, so entweicht die CO_2 jedenfalls ziemlich rasch, und allmählich werden die Kolloide ihr Quellungswasser wieder abgeben; daß sie nun aber mehr Wasser verlieren sollen als sie ursprünglich hatten, dafür ist doch nicht der geringste Grund vorhanden. Daß in der Tat gerade die eine Zeitlang nachwirkende Säurehydratation der Eikolloide bei Delage's CO_2-Versuchen das Ausschlaggebende ist, geht daraus hervor, daß die Versuche um so besser gelingen, je mehr man die einmalige Aufquellung der Eikolloide fördert[2]). Dies kann man nämlich dadurch besorgen, daß man das CO_2 gesättigte Seewasser noch

---

[1]) E. Bataillon, Arch. f. Entwicklungsmech. **18**, 30 (1904).

[2]) Y. Delage, Arch. Zoolog. experim. 3. Ser. **10**, 213—235 (1912).

mit Süßwasser verdünnt. Je geringer der Salzgehalt, um so stärker die quellende Wirkung der Säure.

Die Tatsache, daß manche Parthenogenetika wie die eben besprochenen erst nachträglich wirken, wenn die Eier wieder in normalem Seewasser sind, ist manchen Zoologen, so auch Bataillon stets als Absurdum erschienen. Sie wird uns aber eigentlich sofort ganz selbstverständlich, wenn wir bedenken, daß doch der zum Seewasser zugesetzte Stoff bei dem komplizierten Mechanismus einer lebenden Zelle sehr leicht auf zwei oder mehrere verschiedene Prozesse verändernd einwirken kann. CO_2 wirkt z. B. einerseits auf die Wasseraufnahme fördernd ein, dagegen hemmt es die Atmung. Solange diese unterbunden ist, nützt auch das Plus an Wasser nichts. Entweicht dann die Kohlensäure aus den Zellen, so hört die Wirkung des hemmenden Faktors auf, die Atmung setzt in normalem oder gar gesteigertem Ausmaß wieder ein, der aufgequollene Zustand der Kolloide hingegen hält noch eine Zeit lang an und bringt die Entwickelung in Gang. Nur wenn die Parthenogenetika immer nur auf einen Faktor einwirken könnten, wäre das oben erörterte Verhalten ein Rätsel.

Es liegen nun auch eine Anzahl von Versuchen vor, in denen Parthenogenese durch Stoffe gelang, die sicherlich keine quellende Wirkung auf die Zellkolloide auszuüben vermögen, und von denen man auch nicht recht annehmen kann, daß sie indirekt, nachträglich eine Verflüssigung der Kolloide herbeiführen. Vor allem gehören her eine Reihe ausgesprochener Koagulationsmittel, wie Silbersalze C. Herbst[1]), Kalziumsalze bei Amphitrite [M. H. Fischer[2])], Tannin, Pikrinsäure, Phosphorwolframsäure [Y. Delage[3]), R. S. Lillie][4]). Die Wirkung der hypertonischen Mittel erfordert z. T. auch eine besondere Untersuchung. Daß die genannten Methoden sich nicht durch unsere „Quellungstheorie der Entwickelung" erklären lassen, will ich um so weniger leugnen, als ich es für so gut wie undenkbar halte, daß die verschiedenen Substanzen nur gerade durch Beeinflussung der Quellbarkeit in den Mechanismus der Mitose eingreifen können. Ich bin mir nur schuldig zur Verteidigung unserer Theorie zu zeigen, daß Parthenogenetika der genannten Art nicht einfach auch durch eine entgegengesetzte Beeinflussung der Wasserbindung in den Zellen, als wir sie in dieser Arbeit behandelten, parthenogenetisch wirken können, sondern

---

[1]) C. Herbst, Mitteil. Zool. Stat. Neapel **16**, 445—457 (1904).

[2]) M. H. Fischer, Amer. Journ. Physiol. **7**, 301—314 (1902).

[3]) Y. Delage, Arch. Zoolog. experim. 4. Ser. **7**, 445—505 (1907—08).

[4]) R. S. Lillie, Amer. Journ. Physiol. **26**, 106 [Fußnote] (1910).

daß die Stoffe überhaupt auf ganz andersartige Prozesse einwirken. So einfach die Verhältnisse bei der morphologisch und physiologisch noch nicht spezieller differenzierten Eizelle sind, sind sie doch kompliziert genug, um diese Möglichkeit offen zu lassen. Diese Erörterungen sollen die letzten Abschnitte meiner Abhandlung einnehmen; sie sollen auch noch den besonderen Zweck haben zu untersuchen, ob wir wirklich zu dem resignierten Schluß gezwungen sind, daß alle auch noch so differenten äußeren Einwirkungen auf die Eizelle als ein „Reiz" wirken, auf den diese nur mit einer „Reaktion" antworten kann, nämlich mit der Teilung. Berechtigt wären wir zu diesem Schluß nur dann, wenn wir es für vollständig unmöglich halten müßten, irgend welche direkten und vor allem auch quantitativen Beziehungen zwischen der Wirkung des Parthenogenetikums und den Veränderungen der Eizelle, die zur Mitose führen, zu ermitteln. Nur dann müßten wir an Auslösungserscheinungen denken und unser Unvermögen, die Beobachtungen direkt mechanisch zu erklären, vorläufig mit dem Schlagwort „Reizwirkung" umschreiben; zu einer physikalisch-chemischen Analyse der Reizwirkung selbst wären wir dann natürlich noch viel weniger fähig.

An erster Stelle drängt sich uns eine Gegenüberstellung unserer „Quellungstheorie der Entwickelung" mit der „Koagulationstheorie der Entwickelung" von M. H. Fischer und Wo. Ostwald [1]) auf.

Nur die Namen der Theorien könnten die Vorstellung erwecken, als schließe eine Theorie die andere absolut aus. Das ist aber keineswegs der Fall, denn die Fischer-Ostwald'sche Theorie nimmt nur an, daß verschiedene parthenogenetisch wirkende Substanzen einen ganz bestimmten, absolut lokal beschränkten Koagulationsprozeß in der Zelle hervorrufen, nämlich die Bildung der Astrosphären, daß es sich nicht um eine allgemeine Koagulation (die ja wohl mit einer Dehydrierung verbunden wäre) des ganzen Plasmas handeln soll. Man kann es sich ohne weiteres vorstellen, daß durch die Koagulationsmittel nur ganz bestimmte Zellkolloide ausgefällt werden, und daß diese Koagulation stets von den Zentrosomen oder zentrosomenähnlichen Gebilden ausstrahlt, während andere Bezirke des Zelleibes von ihr ganz unberührt bleiben oder sogar stärker aufquellen können. Wir haben ja unsere Ansicht oben dahin präzisiert, daß besonders die Aequatorzone der Zelle aufquellen soll, traten also auch für eine mehr oder weniger lokalisierte Aufquellung ein, neben der die Entstehung der Astrosphären durch einen Verdichtungsprozeß sehr wohl mög-

---

[1]) M. H. Fischer u. Wo. Ostwald, Arch. ges. Physiol. **106** (1905).

lich erscheint. Auch Y. Delage hat in der oben angeführten Arbeit (1907/08) allerdings in etwas anderer Form die Ansicht ausgesprochen, daß während der Zellteilung nebeneinander oder eventuell gleich nacheinander lokale Verfügungen und lokale Koagulationen der Plasmakolloide stattfinden.

Daß die Astrosphärenbildung eine Verdichtungserscheinung ganz bestimmter Art, so wie das besonders O. Bütschli und L. Rhumbler ausgeführt haben, ist, erschien und erscheint mir auch heute sehr wahrscheinlich[1]). Ob nun aber diese Verdichtung des Plasmas auch durch Reagenzien, die auf die Zelle einwirken, zu Stande gebracht werden kann, ist eine andere Frage. Die Fischer-Ostwald'sche Theorie muß einem auf das Erste sicherlich ganz plausibel oder doch zum wenigsten möglich erscheinen. Beachtet man aber in den Einzelfällen alle Nebenumstände, so ergibt sich für die Theorie kein günstiges Urteil. Mit meinem definitiven Urteil möchte ich zwar so lange noch etwas zurückhaltend sein, bis ich einige Streitpunkte selbst nachgeprüft habe. Einstweilen muß ich aber einige Einwände, die schon J. Loeb[2]) gegen die Theorie erhoben hat, für entscheidend halten und ihnen noch einige weitere beifügen. Loeb stellt ausdrücklich fest (loc. cit. S. 209 und S. 216 ff.), daß nach der kurzen Behandlung der Seeigeleier mit Fettsäuren, die als erste Veränderung die Membranbildung hervorrufen, etwa zwei Stunden verstreichen, ehe die Astrosphären erscheinen, daß also von einer direkten Koagulationsmethode gar keine Rede sein kann. Ueberhaupt muß in allen den Fällen, in denen die erste Veränderung, welche die Parthenogenetika bewirken, Membranbildung ist, sehr in Erwägung gezogen werden, ob nicht die später einsetzende Furchung erst sekundär durch die Zustandsänderungen des Eies bei der Membranbildung veranlaßt wird (Spek). Selbst für die Fälle (hypertonische Salzlösungen), in denen keine Membranen gebildet werden, dagegen eine Entstehung zahlreicher Sphären im ganzen Ei, während dieses noch in der konzentrierten Salzlösung drinnen liegt, zu beobachten ist, so daß hier die direkte Hervorrufung derselben durch die Salze zunächst sehr wahrscheinlich erscheinen muß, ergeben sich weitere Beobachtungen, welche sie ganz in Frage stellen. Entzieht man nämlich der hypertonischen Lösung durch Einleiten von Wasserstoff oder einen kleinen Zusatz von KCN den Sauerstoff, so

---

[1]) Ich verweise auf mein Referat über diesbezügliche Arbeiten in Spek, loc. cit., 1 (1918).

[2]) J. Loeb, Chem. Entwicklungserregung des tier. Eies (Berlin 1909).

bleibt jede Veränderung in der Eizelle aus. Daß eine einfache Koagulierung bei Sauerstoffmangel nicht soll erfolgen können, wird man kaum behaupten können. Aus dem Versuch Loeb's geht hervor, daß zur Strahlenbildung gewisse chemische Veränderungen im Zelleib, ich vermute gewisse Veränderungen der Zentrosomen oder der kleinen zentrosomenähnlichen Körnchen eines festeren Kolloides Vorbedingung sind, zu denen freier Sauerstoff notwendig ist. Durch Erhöhung der Konzentration der Seesalze werden die Oxydationsprozesse im Ei gesteigert [O. Warburg[1])], die Oxydationssteigerung fördert die Ausbildung von Strahlenfiguren, wobei die Wasserentziehung aus dem Plasma noch besonders fördernd mitwirken könnte. Das könnte die Erklärung der Wirkung der hypertonischen Salzlösungen sein. Die Annahme wird weiterhin noch dadurch gestützt, daß Substanzen, welche die Oxydation herabsetzen wie die Narkotika, auch begonnene Asterenbildungen stark hemmen. Das gilt z. B. für ätherisiertes Seewasser [E. B. Wilson[2])]. Werden die Eier aus dem Aetherseewasser wieder in normales Seewasser überführt, so setzt die weitere Ausbildung der Strahlungen sogleich wieder ein. — Auch für Aether und ähnliche Substanzen wurde von Fischer und Ostwald eine Sphärenbildung durch Koagulationswirkung angenommen, doch sehen wir, daß auch hier die tatsächlichen Beobachtungen nicht dafür sprechen. Während des Aufenthaltes der Eier im Seewasser wird die Sphärenbildung sogar stark behindert.

Manchen quellungsfördernden Parthenogeticis kommt auch eine koagulierende Wirkung zu. Besonders unter den zytolytischen Mitteln gibt es dann aber auch solche, denen ein Fällungsvermögen fehlt (Saponin, Solanin u. a., J. Loeb loc. cit.). Dann möchte ich es nicht unterlassen, auch die schon in der Einleitung angeführte Arbeit R. S. Lillie's über Parthenogenese mit verschiedenen Na- und K-Salzen hier nochmals anzuführen. Die Reihen, in die sich die Salze nach der Stärke ihrer Wirkung einordnen lassen, stimmen, wie oben erwähnt wurde, mit der Quellungsreihe überein, nicht aber mit der Fällungsreihe. Die am stärksten koagulierenden Ca-Salze sind unter Lillie's Versuchsbedingungen überhaupt unwirksam. —

Für Stoffe, welche wie die Alkalien in den physiologischen Konzentrationen nachgewiesenermaßen[3]) in die Zellen überhaupt nicht ein-

---

[1]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 443—453 (1908).
[2]) E. B. Wilson, Arch. f. Entwicklungsmech. **13** (1901).
[3]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **66**, 305—340 (1910).

dringen, läßt sich die Koagulationstheorie der Asterenbildung natürlich auch nicht anwenden. Ich stehe somit auf dem Standpunkt, daß uns eine Asterenbildung durch direkte Koagulationswirkung fraglich erscheinen muß und daß die beobachtete Vielfachbildung von Astrosphären im Ei in bestimmten Salzlösungen nur eine indirekte Wirkung der betreffenden Salze ist. In den Fällen, wo sich eine Befruchtungsmembran bildet, erscheint die Strahlenbildung als etwas ganz sekundäres.

In beschränktem Maße (etwa in dem Falle stärker hypertonischer Salzlösungen) können wir in der künstlichen Astrosphärenbildung einen zur Entwickelungserregung führenden Faktor erblicken, der sich durch ganz andere, zum Teil ganz entgegengesetzte Mittel als die Aufquellung der Zellkolloide vor der Zellteilung beeinflussen läßt. Die Ursache parthenogenetischer Wirksamkeit einiger ausgesprochen koagulierend wirkender Substanzen ist meiner Ansicht nach durch diesen Faktor (Hervorrufung von Astrosphären) noch nicht erklärt.

Von ganz besonderer Bedeutung bei der Entwickelungserregung des tierischen Eies sind ohne Zweifel die Oxydationsprozesse. Schon die Tatsache, daß die Atmung nach der Befruchtung ganz beträchtlich gesteigert wird, müßte uns dies als sehr wahrscheinlich erscheinen lassen; durch viele der bekannten Loeb'schen Versuche wird es ja aber zur Sicherheit. Das Problem wurde in dieser Abhandlung schon wiederholt angeschnitten; hier soll uns nun hauptsächlich noch die Frage interessieren, inwieweit Mittel, welche die Oxydation fördern, die Wasseraufnahme gerade im entgegengesetzten Sinne beeinflussen können. Oben wurde schon erwähnt, daß durch Erhöhung der Salzkonzentration des Seewassers die Oxydationsprozesse in den Eiern gesteigert werden. Hypertonisches Seewasser bewirkt nun nachweisbar durch die Exosmose eine Wasserentziehung. Daß aber die Oxydationssteigerung und nicht die Wasserentziehung für die parthenogenetische Wirkung der hypertonischen Lösungen das Ausschlaggebende ist, geht deutlich genug aus Loeb's Erfahrungen hervor, daß die hypertonische Lösung bei Abwesenheit von Sauerstoff unwirksam bleibt, daß bei der Erhöhung der Konzentration des Seewassers die Konzentration der Hydroxylionen, denen nach O. Warburg (loc. cit.) ein besonderer fördernder Einfluß auf die Oxydationsprozesse zukommt, von großer Bedeutung ist, und daß in der hypertonischen Lösung selbst nur in Ausnahmefällen einige kümmerliche Teilungen zustande kommen. Wird ein Ei im Furchungsstadium in die hypertonische Lösung gesetzt, so wird die Furchung ganz sistiert oder verlangsamt. Nach den Erfahrungen R. Lillie's zu schließen, die wir

ja oben schon kennen lernten, kann man wohl sagen, daß die hypertonische Lösung um so besser wirken würde, je geringer der durch sie auf osmotischem Wege bewirkte Wasseraustritt aus der Zelle ist, ohne daß dabei die Förderung der Oxydation eine zu geringe ist. Bei Erhöhung der Konzentration des Seewassers wird die Oxydation gefördert, aber Wasser entzogen, bei Verdünnung des Seewassers wird der Wassergehalt der Zelle erhöht, aber die Atmung erschwert. Beide Veränderungen liefern nur unvollkommene Methoden der künstlichen Parthenogenese.

Versuche, welche E. Bataillon an Amphibieneiern ausführte und die ihm eine Entwickelungserregung durch iso- oder hypertonische Salzlösungen auch bei dauerndem Aufenthalt der Eier in den Lösungen ergaben, wurden vom Autor zur Stütze seiner Dehydrierungstheorie der Entwickelung verwendet. Die Experimente sind aber nichts weniger als beweiskräftig. Als einzige physikalische Wirkung seiner hypertonischen Lösung kennt Bataillon nur die Osmose. Es ist aber sehr fraglich, ob die angewandten reinen Salzlösungen (!), meist NaCl-Lösungen, die also besonders geeignet wären, eine Permeabilitätssteigerung herbeizuführen und zu raschem Ausgleich der osmotischen Druckdifferenzen zu führen, nicht gerade eine Steigerung der Wasseraufnahme mit sich bringen, die um so sicherer eintreten müßte, wenn die quellungssteigernde Wirkung des Salzes in den betr. Konzentrationen nicht zu vernachlässigen wäre, was eben erst untersucht werden muß. Reine Salzlösungen sind eben, wie wir eingangs erörterten, mehr oder weniger Zytolytika und zum Wesen der Zytolyse gehört auch eine gewisse Verquellung der Kolloide. Das muß bei den erwähnten Versuchen sehr wohl in Erwägung gezogen werden. — Weiterhin wird dann in reinen Salzlösungen auch die Oxydation stark gesteigert (O. Warburg). Das allein könnte aber auch schon die Ursache der Entwickelungserregung sein, ganz gleichgültig, ob dann im übrigen der Wassergehalt etwas verändert wird oder nicht. Zumal bei dem verhältnismäßig wasserreichen frühen Entwickelungsstadium könnte ja die Oxydationssteigerung allein auch schon ausreichen, um ein paar Zellteilungen in Gang zu setzen.

Auch für Zuckerlösungen ist es mehr wie fraglich, ob sie, wie nicht nur Bataillon, sondern auch andere Autoren anzunehmen pflegen, nur durch Osmose auf die Zellen einwirken können. Bringt man ein Seetier aus dem Seewasser in Zuckerlösungen, so wird durch das Fortfallen der Salzwirkungen vor allem der fällenden Wirkung der Salze die Permeabilität der Zellen stark erhöht werden müssen, und

dies wird seine bestimmten Folgen haben. Für Süßwassertiere wird wohl der Unterschied weniger groß sein. Für diese wie für jene kommt dann aber noch in Betracht, daß nicht allzu konzentrierte Zuckerlösungen die Quellung der Kolloide fördern. Je nach der Beschaffenheit der Zellmembranen wird dann bei verschiedenem Zellmaterial bald der eine (osmotische) Faktor, bald der andere (Quellungs- und Permeabilitätsbeeinflussung) überwiegen, das muß in den verschiedenen Fällen besonders untersucht werden. Ohne weiteres an das unbewiesene Dogma der Indifferenz von Zuckerlösungen zu glauben, ist jedenfalls ein Fehler. — Direkte Beobachtungen einer Permeabilitätssteigerung an Darmzellen in Zuckerlösungen machten Meyerhofer und Stein[1]). Indirekte Beobachtungen liegen von verschiedenen Autoren vor. — Wie die Atmung durch Zuckerlösungen beeinflußt wird, ist noch nicht festgestellt.

Um meine Ansicht über Bataillon's Versuche und ihre Deutungen kurz zusammenzufassen, erscheint mir ihre Beweiskraft zugunsten der Dehydrierungstheorie sehr fraglich. Sie bedürfen noch speziellerer Nachprüfungen, wenn sie zu allgemeinen Schlüssen verwendet werden sollen.

Ich wende mich nun zu einem wichtigen letzten Kapitel. Es soll über das Wesen der Membran- und Saftraumbildung handeln. Als ich versuchte, alle Einzelheiten, die sich bei der künstlichen und natürlichen Membranbildung und der Entstehung des „perivitellinen Saftraumes“ möglichst genau und klar in Worten auszudrücken, ergab sich mir eine überraschende Formulierung der Beobachtungstatsachen. Was wir direkt wahrnehmen können, ist erstens die Ausscheidung einer Flüssigkeit zwischen der Membran (die dadurch abgehoben wird) und dem Protoplasten. Dieser ausgeschiedene perivitelline Saft enthält eine kolloide Substanz, ist also nicht etwa reines Wasser oder eine Salzlösung. Vor der Saftraumbildung läßt sich bei den Eiern von kleinen Nematoden eine Entstehung zahlreicher Vakuolen im Plasma beobachten, die bei der Membranabhebung wieder verschwinden. Bei Ascaris megalocephala wird das Plasma vor der Saftraumbildung ganz dunkelbraun und undurchsichtig. Später ist es recht durchsichtig. Bei der Membranabscheidung nimmt das Gesamtvolum des Eies einschließlich des Saftraumes bedeutend zu, es wird also viel Wasser von außen aufgenommen. Der Protoplast selbst erfährt nur eine unwesentliche Volumänderung. Für das

[1]) Meyerhofer u. Stein, Biochem. Zeitschr. **27**, 376 (1910).

Seeigelei fand Mc Clendon[1]) bisweilen eine schwache Vergrößerung, O. Glaser[2]) dagegen eine kleine Volumverminderung. Bei Petromyzon ist die Volumverminderung des Protoplasten etwas stärker [P. Okkelsberg][3]).

Es ergibt sich uns somit als Wesen der Membranabhebung eine Ausscheidung eines dünnflüssigeren Kolloides aus dem Protoplasten unter beträchtlicher Wasseraufnahme von außen, oder mit andern Worten die Trennung der Plasmakolloide in zwei Phasen, in eine dünnflüssige, den perivitellinen Saft, und eine festere, den Protoplasten, kurz gesagt: **ein Entmischungsprozeß der Plasmakolloide des Eies.**

Ich benütze zur Wiedergabe des Gesehenen einen Ausdruck, der dem Kolloidchemiker schon recht geläufig geworden ist und bekannte Erscheinungen von Kolloiden bezeichnet: Entmischungsprozeß. Diese Klassifizierung der Vorgänge bei der Membranbildung scheint mir aus dem Grunde eine glückliche zu sein, weil sie erstens einmal ein ganzes großes Arbeitsprogramm enthält, wovon wir uns gleich überzeugen werden, zweitens aber, weil sie für manche Methoden der künstlichen Parthenogenese mit einem Schlage neue Erklärungsmöglichkeiten eröffnet.

Entmischungen pflegen in toten Kolloiden so zu erfolgen, daß sich die eine Phase etwa in Form von Tröpfchen, welche die ganze Masse der andern Phase durchsetzen, in dieser ausscheidet. Das Plasma der Nematodeneier bietet vor der Saftraumbildung genau dasselbe Bild dar. Entweder entstehen große Tropfen einer wässerigen Phase im ganzen Ei (kleine Nematoden) oder das ganze Ei ist von feinsten Tröpfchen durchsetzt (Askaris); nur so wenigstens kann ich mir das erwähnte Braunwerden der Askariseier erklären. Für die Seeigeleier nahm zwar J. Loeb an, daß die Kolloide des Saftraumes bloß durch oberflächliche Auflösung und Aufquellung gewisser Stoffe der Rindenschicht des Eies entstehen sollen, doch ist das eine reine Annahme, die sich nicht durch tatsächliche Beobachtungen stützen läßt. Unbeeinflußt durch physikalische Ueberlegungen irgendwelcher Art hat auch schon M. Konopacki. Bedenken gegen diese Annahme erhoben und gestützt auf zytologische Beobachtungen an Eiern, die mit

---

[1]) Mc Clendon, Science, n. s. 32 (1910).
[2]) O. Glaser, Biol. Bull. 26, 84—91 (1914).
[3]) P. Okkelsberg, Biol. Bull. 26, 92—99 (1914).

Chloroform oder Benzol behandelt worden waren[1]), eine Zustandsänderung des ganzen Plasmas der Eizelle für wahrscheinlich erklärt[2]) Möglich wäre es ja schließlich, daß besonders bei unvollkommeneren Methoden der künstlichen Parthenogenese nur eine teilweise Entmischung des Eies in seinen oberflächlichen Regionen veranlaßt wird, oder daß bei Einwirkung bestimmter Stoffe von außen zunächst die Membrankolloide eine Entmischung erfahren. Unser Gedankengang fordert jedenfalls zu genauester Untersuchung dieser Verhältnisse auf.

Was kann nun eine Entmischung von Kolloiden herbeiführen? Vermutlich schon sehr geringfügige Verschiebungen des Wassergehaltes, Beeinflussung der Löslichkeitsverhältnisse usw. Besonders für ein Gemisch ganz verschiedenartiger Kolloide, wie es auch im Plasma vorliegen dürfte, ergibt sich die theoretische Möglichkeit, durch Stoffe, welche in dieser Hinsicht bedeutsame physikalische Eigenschaften der einzelnen Kolloide, also etwa ihre Quellbarkeit in ganz verschiedenem Maße beeinflussen, Entmischungsprozesse hervorzurufen, — das ist ein Programm für eine kolloidchemische Untersuchung, an der die Biologie sehr großes Interesse hätte. Da es sich beim Entmischungsprozeß um die Entstehung von Phasen zum Teil direkt entgegengesetzter Eigenschaften handelt, liegt auch der Gedanke sehr nahe, daß auch sehr verschiedene Mittel, zum Teil auch solche, die ebenfalls ganz entgegengesetzter Natur sind, eine Entmischung veranlassen können, indem das eine primär die Entstehung der einen Phase, das andere die Entstehung der andern begünstigt. Der Nachweis dieser Möglichkeit wäre für das Problem der künstlichen Parthenogenese von außerordentlicher Bedeutung, denn er würde weitere rein mechanische Erklärungen dafür bringen, daß auch Einwirkungen ganz entgegengesetzter Natur denselben Vorgang, nämlich die Membranbildung und die nachfolgende Teilung des Eies verursachen können, und würde die Erklärung für ganz überflüssig erscheinen lassen, daß diese Einwirkungen nur „Reize" sind, die die Entwickelung auslösen. Ich spreche also die Vermutung aus, daß nicht nur die quellungsfördernden Zytolytika, sondern auch so ausgesprochen koagulierend wirkende Stoffe wie Kalziumsalze, Silbersalze, Tannin, Pikrinsäure, soweit sie imstande sind, Membranbildung zu verursachen, dies durch eine Entmischungswirkung auf das Plasma zu Wege bringen.

Bei dem Entmischungsprozeß des Plasmas in eine dünnere und eine dichtere Phase braucht die letztere, also der Protoplast, keine

---

1) M. Konopacki, Bullet. Acad. Scienc. Cracovie (1912).

2) M. Konopacki, Arch. f. Entwicklungsmech. 44, 374 ff. (1918).

absolute Verdichtung zu erfahren, es kommt nur darauf an, daß Differenzen in der Dichte entstehen, was natürlich auch z. B. bei allgemeiner Aufquellung der Eikolloide möglich ist. Da bei der natürlichen wie bei der künstlichen Membranbildung eine Veränderung der Zelloberfläche stattfindet, die nachgewiesenermaßen zu einer Permeabilitätssteigerung führt, kann und wird dieser, auch wenn der Entmischungsprozeß durch vorübergehende Einwirkung quellungshemmender Stoffe hervorgerufen wurde, eine Steigerung der Wasseraufnahme in die Zelle, eine Verflüssigung bestimmter Kolloide derselben folgen. — Ob die durch die Zunahme des Gesamtvolums erkennbare starke Wasseraufnahme nur durch eine sekundäre noch stärkere Wasseraufnahme der schon ausgeschiedenen dünneren Phase verursacht wird, oder ob das Wasser noch vor bzw. während des Entmischungsprozesses in die Zelle und vor allem in die entstehende dünnere Phase aufgenommen wird, läßt sich bei dem raschen Ablauf der Veränderungen schwer feststellen. Beide Möglichkeiten sind ohne weiteres denkbar. Die Eizellen verschiedener Tiere brauchen sich ja darin nicht gleich zu verhalten. Jedenfalls bereitet es uns aber gar keine Schwierigkeiten, auch die Entstehung von Befruchtungsmembranen bei vollständigem Abschluß von Wasser, so wie dies in Versuchen von E. Bataillon[1]) an Amphibieneiern, die im Trocknen befruchtet wurden, verwirklicht ist, zu erklären. Künstliche Befruchtung trocken gelegter Amphibieneier führte Bataillon z. B. mit Chloroform- oder Toluoldämpfen aus, die er einige Minuten lang einwirken ließ. Für Chloroform ist eine kräftig quellungfördernde Wirkung nachgewiesen. In den angeführten Versuchen ist nun zwar eine Aufquellung der Eikolloide unter Wasseraufnahme unmöglich gemacht, nicht aber eine Verflüssigung der Eikolloide im Sinne einer Umwandlung von Gelen zu Solen, die gar keine Wasseraufnahme erfordert, im übrigen aber mit einer eigentlichen Aufquellung gleichsinnig wirken dürfte. Auch dieser Hieb Bataillon's gegen die Quellungstheorie der Entwickelung ist also ein Schlag ins Wasser.

Bei Petromyzon- und Amphibieneiern ist die Volumverringerung des Protoplasten bei der Membranabhebung verhältnismäßig groß. Wir führen sie also auf die Ausscheidung der einen Phase zurück. Daß man eine solche „Kontraktion des Plasmas" nicht ohne weiteres als einen Entquellungsvorgang, als Wasserabgabe aus dem Plasmaleib

[1]) E. Bataillon, Ann. scienc. natur. (Zoolog.) 9. Serie, **16** (1912).

ansehen kann, wie Bataillon es tut, geht aus dem Gesagten zur Genüge hervor.

Schließlich wollen wir aus unserem Gedankengang über die Saftraumbildung eine letzte Konsequenz ziehen. Wir wollen uns fragen, wie sich wohl bei einer Entmischung eines Kolloides in eine Phase, die viel Kolloid und wenig Wasser, und eine zweite, die viel Wasser und wenig Kolloid enthält, in dem Kolloid gelöste Salze auf die Phasen verteilen dürften. Ueber diesen Gegenstand liegen schon experimentelle Untersuchungen vor. So führte K. Spiro[1]) an Eiweißkörpern (Kasein, Gelatine), in denen durch Salzzusätze voneinander trennbare Phasen zur Abscheidung gelangten, Analysen aus, die den Gehalt jeder Phase an Eiweiß, Wasser und Salzen bestimmen sollten. Es ergab sich nun immer, daß die Phase, welche viel Eiweiß und wenig Wasser enthält, auch wenig Salze mitbekommt, während die wässerige Phase wenig Eiweiß, aber die größere Menge von Salzen aufnimmt. Lassen sich diese Befunde auf die Entmischungsprozesse ähnlicher Kolloide verallgemeinern, was noch durch spätere Untersuchungen festgestellt werden muß, so ergibt sich für die Befruchtung, daß bei der Saftraumbildung eine beträchtliche Salzentziehung aus dem Zellkörper des Eies stattfinden muß, ein Resultat unserer Ueberlegungen, welches durch die Entdeckung von Backman u. Runström[2]) glänzend bestätigt wird, daß nach der Befruchtung der Salzgehalt der Eizelle (der durch die Gefrierpunktserniedrigung bestimmt wird) sich um das Zehnfache vermindert, um dann, wie schon früher erwähnt wurde, ganz allmählich wieder größer zu werden. Durch keine osmotische Aenderung irgendwelcher Art läßt sich diese Erscheinung erklären, nach unseren Vorstellungen vom Befruchtungsvorgang wird sie hingegen zur Selbstverständlichkeit! Und nun möchte ich einen Gedankengang wieder aufnehmen, den ich im vorigen Kapitel abgebrochen habe. Wir kamen dort zum Schluß, daß sich der Salzgehalt der Zellen von Teilung zu Teilung immer mehr vergrößert und schließlich weitere Teilungen sehr erschwert. Es ergibt sich daraus fast mit Denknotwendigkeit, daß irgendwo in der Entwickelung der Salzgehalt auch wieder vermindert werden muß. Durch Bindung der Salze an die Zellkolloide, wie sie ja sicher häufig erfolgen wird, würde ja zwar die Menge der freien Salze in der Zelle vermindert werden, aber das kann doch wohl kaum

---

[1]) K. Spiro, Beitr. chem. Physiol. 4, 300—322 (1904).

[2]) Backman u. Runström, Biochem. Zeitschr. 22, 290—298 (1909).

eine vollkommenere Behebung des Uebels sein. Backman u. Runström nehmen auch für die Befruchtung eine solche Bindung der Salze an. Sie müssen dann für die späteren Stadien auch wieder ein Freiwerden der Salze postulieren (denn wenn ja das nicht bei irgend einer Gelegenheit folgen würde, müßte ja der absolute Salzgehalt der Zellen von Generation zu Generation höher werden). Einstweilen ist aber besonders die Annahme einer nachträglichen Abspaltung der Salze reine Hypothese. Meine Erklärung scheint mir plausibler zu sein. Die bei der Befruchtung durch den Entmischungsprozeß der Eikolloide bewirkte Entfernung einer gewissen Menge von Salzen ermöglicht es, daß dann in jeder Generation die sonderbaren und gesetzmäßigen Veränderungen des Salzgehaltes, die für das ganze Zellgeschehen, die Entwickelungsprozesse des Organismus und die physiologischen Leistungen seiner Zellen von so großer Bedeutung werden, immer wieder aufs neue in gleicher Weise einsetzen können.

Kurze Zusammenfassung der Hauptresultate.

Salze können auf die Zellteilungen der Paramäzien 1. durch Veränderung des Quellungszustandes der Plasmakolloide fördernd oder hemmend, 2. durch besonders reichliche Ansammlung in dem Innern der Zelle hemmend einwirken. Punkt 1 läßt sich dadurch überzeugend beweisen, daß Salze, die auf die Quellung einen mächtigen Einfluß ausüben, auch sehr wirksame Mittel sind, die Teilungsgeschwindigkeit zu verändern. Stark quellende Salze, d. h. Salze, bei denen beide Ionen stark quellungsfördernd wirken, oder aber nur eins, ohne daß das andere Ion entgegengesetzt wirkt, fördern die Zellteilungen ganz bedeutend. LiBr, LiCl und KSCN wirken auf diese Weise. Daß diese Salze auch auf die Plasmakolloide der Paramäzien quellungsfördernd wirken, geht aus einer Volumzunahme der Tiere hervor. — Entquellend wirkende Salze wie $CaCl_2$ oder Sulfate hemmen die Zellteilungen in hohem Maße, für die Sulfate gilt die Kationenreihe $Li > K > Na$. Beim Li_2SO_4 kann gelegentlich der teilungsfördernde Einfluß des Kations über den teilungshemmenden Einfluß des Anions überwiegen. Für die Chloride gilt die mit der Quellungsreihe ebenfalls übereinstimmende Kationenreihe $Li > Na > Ca$. KCl, das nach Angaben Balbiani's auf die Paramäzien in stärkeren Konzentrationen stärker quellungsfördernd wirkt als NaCl (ganz entsprechend den allgemeinen Erfahrungen der Kolloidchemiker), übt in den von mir an-

gewandten Konzentrationen auf den Quellungszustand der Paramäzien keinen so großen Einfluß aus wie LiCl oder KSCN. Es wirkt auf die Zellteilungen zum Teil recht stark hemmend ein. Ich erkläre dies in Anlehnung an eine große Reihe übereinstimmender Beobachtungstatsachen anderer Autoren durch das Vermögen dieses Salzes leichter als andere Salze in die Zellen einzudringen, mit a. W. aus einer zu starken Erhöhung des absoluten Salzgehaltes der Zellen in den KCl-haltigen Kulturmedien. Für NaCl ergibt sich in viel geringerem Maß auch eine solche Einwirkung auf die Zellen. Die erwähnten stark quellungs- und teilungsfördernden Salze LiCl und KSCN bleiben infolge ihrer stark fällenden Wirkung mehr oder weniger in den oberflächlichen Regionen des Zelleibes, ohne das Zellinnere, wo auch der Kern liegt, zu überfluten.

Von Magnesiumsalzen wirkt sowohl das Chlorid als auch das Sulfat sehr indifferent. Diese Indifferenz scheint hauptsächlich in einem geringen Eindringen der Salze seine Ursache zu haben.

Kein einziges Versuchsresultat meiner mannigfaltigen Salzkulturen sprach für die Annahme der Dehydrationstheoretiker, daß sich durch osmotische Wasserentziehung Zellteilungen anregen ließen.

Ein Zusatz kolloider, quellbarer Stoffe zum Kulturmedium, also z. B. Gelatine, hemmt die Zellteilungen.

Verschiedene Rassen von Paramäzien verhalten sich nicht alle gleich. Die Verschiedenheiten finden in ungleicher Permeabilität der Paramäzienzellen und in ungleicher Quellbarkeit ihres Plasmas ihre Erklärung.

Unsere theoretischen Ueberlegungen führten zu folgenden Hauptresultaten:

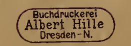
Die Verquellung der Plasmakolloide vor jeder Zellteilung wird durch das Auftreten einer Base, die als Nebenprodukt der Nukleinsynthese entsteht und in die Aequatorregion der Zelle diffundiert, verursacht. Die Permeabilitätssteigerung während der Zellteilung bringt immer wieder eine Erhöhung des Salzgehaltes der Zelle mit sich. Die eindringenden Salze kompensieren die Wirkung der Base. Eine Erhöhung des Salzgehaltes der Zellen über einen gewissen Grad sistiert die Zellteilungen. Das Auftreten besonders gut quellbarer Stoffe in den Zellen bringt neue Zellteilungen in Gang. Eine Aufquellung der Kolloide erleichtert den Gasaustausch und hydrolytische Prozesse im Zellkörper. — Jede Zellteilung leitet in mehr oder weniger vollkommener Weise automatisch eine weitere Zellteilung ein.

Auch unter den Substanzen, mit welchen sich künstliche Parthenogenese herbeiführen läßt, spielen gute Quellungsförderer eine überragende Rolle. Andere Parthenogenetika bringen die Entwickelung in Gang durch künstliche Hervorrufung von Astrosphären, durch Steigerung der Oxydationsprozesse oder schließlich durch Herbeiführung der Membranbildung, die dann an sich schon imstande sein dürfte, Teilungen einzuleiten. Das Wesen der Membranbildung bzw. der Saftraumbildung ist eine Entmischung des Protoplasmas in eine wässerige Phase (den perivitellinen Saft) und eine konzentriertere, den Protoplasten. Ein solcher Entmischungsprozeß dürfte sich durch sehr differente, eventuell auch in mancher Beziehung direkt entgegengesetzt wirkende Substanzen herbeiführen lassen. — Bei der Entmischung des Protoplasmas während der Membranbildung wird der größere Teil der Zellsalze in den perivitellinen Saft ausgeschieden.

* * *

Zum Schlusse spreche ich Herrn Geh. Rat Prof. O. Bütschli und Herrn Prof. C. Herbst für ihr freundliches Entgegenkommen während des Entstehens meiner Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Heidelberg, den 2. Februar 1919.


Buchdruckerei
Albert Hille
Dresden-N.




3 0112 106067702